

DENISE ADAMCZYK KOZEMJAKIN

**ALTERAÇÕES ANATOMOPATOLÓGICAS DO ESTÔMAGO,
INTESTINO DELGADO, FÍGADO E RINS DE RATOS
(*Rattus norvergicus*) INTOXICADOS EXPERIMENTALMENTE
COM *Daphnopsis racemosa* GRISEB. (EMBIRA-BRANCA).**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Ennio Luz

Co-orientador: Prof. João Maria Ferraz Diniz

CURITIBA
1995

DENISE ADAMCZYK KOZEMJAKIN

ALTERAÇÕES ANATOMOPATOLÓGICAS DO ESTÔMAGO, INTESTINO
DELGADO, FÍGADO E RINS DE RATOS (*Rattus norvergicus*)
INTOXICADOS EXPERIMENTALMENTE COM *Daphnopsis racemosa*
GRISEB. (EMBIRA-BRANCA).

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção
do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciências
Veterinárias da Universidade Federal do Paraná, pela
Comissão formada pelos professores:

Orientador:



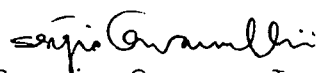
Prof. Ennio Luz

Setor de Ciências Biológicas, UFPR



Prof. Italo Minardi

Setor de Ciências Agrárias, UFPR



Prof. Sergio Ossamu Ioshii

Setor de Ciências da Saúde, UFPR

Curitiba, 27 de dezembro de 1995

Ao Mestre João Diniz.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Ennio, exemplo de conduta pessoal e profissional, que confiou em mim e em nosso trabalho.

Ao Prof. João Diniz, meu Mestre, com quem tenho o privilégio de poder trabalhar e estudar, um profissional e pesquisador de inquestionável competência, predestinado por Deus a ensinar.

Ao Prof. Luiz Leite, amigo e colega de curso, e Prof^a Silvana Cirio, que propiciaram a oportunidade única de trabalhar com o Prof. Ennio e Prof. João, cedendo a estrutura do PANLAB Laboratório de Patologia Animal.

A amiga e colega de curso Dr^a Ivete Coimbra, que participou ativamente de todas as fases deste trabalho, colaborando diretamente para seu êxito.

Ao TECPAR-PR, em especial a Divisão de Análises Biológicas, que durante mais de um ano permitiu o uso de suas instalações e animais para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Metry Bacila, fundador do Curso, que com seu idealismo e otimismo contagiante apóia e auxilia a todos.

Aos meus pais e especialmente a meu pai, Dimitry, que juntamente com o Prof. João, usando da peculiar engenhosidade de pesquisadores e cientistas, montaram um dos equipamentos mais importantes para este trabalho, o fotomicroscópio que permitiu a realização de belíssimas fotomicrografias.

As amigas e colegas servidoras públicas federais, Tânia, Deleuze e Sílvia, e a todos os técnicos-administrativos, a base de sustentação da Instituição, que com seu trabalho anônimo propiciam o funcionamento de nossa Universidade.

Enfim, a todos os Cidadãos Brasileiros Contribuintes, que com seus milésimos de centavos recolhidos através de Impostos Federais, contribuíram para a realização deste trabalho através da concessão de bolsa de estudos pela agência CNPq.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	03
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1 LOCAL.....	13
3.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS.....	14
3.3 MATERIAL TESTE.....	16
3.3.1 Obtenção da Suspensão Aquosa.....	24
3.4 METODOLOGIA.....	24
4 RESULTADOS.....	28
4.1 ASPECTOS CLÍNICOS.....	28
4.2 ASPECTO MACROSCÓPICO DOS ÓRGÃOS.....	29
4.3 ASPECTO MICROSCÓPICO DOS ÓRGÃOS.....	30
4.3.1 Aspecto Microscópico do Estômago.....	30
4.3.2 Aspecto Microscópico do Intestino Delgado.....	33
4.3.3 Aspecto Microscópico do Fígado.....	36
4.3.4 Aspecto Microscópico dos Rins.....	49
4.4 ANÁLISE QUÍMICA DA PLANTA.....	52
5 DISCUSSÃO.....	53
6 CONCLUSÕES.....	57
7 ANEXOS.....	58
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

LISTA DE FIGURAS

1	ASPECTO DAS FOLHAS INTEIRAS E SIMPLES, ORA ALTERNADAS EM ESPIRAIS, ORA OPOSTAS, SEM ESTÍPULAS DE <i>D. racemosa</i> (EMBIRA-BRANCA).....	17
2	FOLHAS SIMPLES E SEM ESTÍPULAS DE <i>D. racemosa</i> OBSERVANDO-SE ESTRUTURA BASTANTE FIBROSA.....	18
2A	ESTRUTURA FIBROSA DA FOLHA DE <i>D. racemosa</i> . FILTRO DE POLARIZAÇÃO. OB. 40X.....	19
3	FLORES ESBRANQUIÇADAS E POUCO DISTINTAS DISPOSTAS EM FASCÍCULOS AXILARES E CURTOS RÁCEMOS DE <i>D. racemosa</i>	20
4	ASPECTO DOS FRUTOS DE <i>D. racemosa</i>	21
5	<i>D. racemosa</i> EM SEU <i>habitat</i> NATURAL OBSERVANDO-SE O TIPO ARBORESCENTE E DE ARBUSTO NA MARGEM DE RIACHO E ORLA DE PASTAGEM EM CASTRO-PR.....	22
6	PARTES AÉREAS DE <i>D. racemosa</i> DESSECADAS E MOÍDAS..	23
7	SONDA OROGÁSTRICA UTILIZADA NO ENSAIO BIOLÓGICO DE INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL EM RATOS (<i>R. norvegicus</i>) COM SUSPENSÃO AQUOSA DE <i>D. racemosa</i>	26
8	RATO ALBINO (<i>R. norvegicus</i>) RECEBENDO SUSPENSÃO AQUOSA DE <i>D. racemosa</i> ATRAVÉS DE Sonda OROGÁSTRICA.....	27
9	GANHO DE PESO ACUMULADO POR SEMANA DE CADA TRATAMENTO E DO GRUPO TESTEMUNHA DURANTE O EXPERIMENTO.....	28
10	CONGESTÃO HEPÁTICA EM (<i>R. norvegicus</i>) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM <i>D. racemosa</i>	29
11	NECROSE DE CÉLULAS EPITELIAIS NA TÚNICA MUCOSA DO ESTÔMAGO DE <i>R. norvegicus</i> INTOXICADO	

EXPERIMENTALMENTE COM <i>D. racemosa</i> . HEMATOXILINA DE HARRIS-EOSINA. OB. 40X.....	31
12 REGIÃO AGLANDULAR DO ESTÔMAGO DE <i>R. norvegicus</i> COM HIPERQUERATOSE E INFILTRAÇÃO LINFOPLASMOCITÁRIA E EXSUDAÇÃO NEUTROFÍLICA APÓS INTOXICAÇÃO COM <i>D. racemosa</i> . TRICRÔMICO DE MALLORY. OB. 40X.....	32
13 MODERADA INFILTRAÇÃO LINFOPLASMOCITÁRIA NA TÚNICA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE <i>R. norvegicus</i> INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM <i>D. racemosa</i> . HEMATOXILINA DE HARRIS-EOSINA. OB.40X.....	34
14 DESCOLAMENTO DA CAMADA EPITELIAL DO CÓRION DA VILOSIDADE E INFILTRAÇÃO LINFOPLASMOCITÁRIA NO INTESTINO DELGADO DE <i>R. norvegicus</i> INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM <i>D. racemosa</i> . TRICRÔMICO DE MALLORY. OB. 40X.....	35
15 HEMORRAGIA CENTROLOBULAR E GRUPOS DE SINUSÓIDES DILATADOS NO FÍGADO DE <i>R. norvegicus</i> INTOXICADO COM <i>D. racemosa</i> . HEMATOXILINA DE HARRIS-EOSINA. OB. 40X.....	38
16 ACENTUADA MEGALOCITOSE COM NUCLEÓLOS MÚLTIPLOS E EVIDENTES E NECROSE DE HEPATÓCITOS ISOLADOS NO FÍGADO DE <i>R. norvegicus</i> INTOXICADO COM <i>D. racemosa</i> . HEMATOXILINA DE HARRIS-EOSINA. OB. 40X..	39
17 NECROSE CENTROLOBULAR E VACUOLIZAÇÃO CITOPLASMÁTICA DE HEPATÓCITOS NO FÍGADO DE <i>R. norvegicus</i> INTOXICADO COM <i>D. racemosa</i> . HEMATOXILINA DE HARRIS-EOSINA. OB. 40X.....	40
18 NECROSE CENTROLOBULAR E VACUOLIZAÇÃO CITOPLASMÁTICA DE HEPATÓCITOS NO FÍGADO DE <i>R. norvegicus</i> INTOXICADO COM <i>D. racemosa</i> . TRICRÔMICO DE MALLORY. OB. 40 X.....	41
19 FIBROSE NO ESPAÇO PORTA NO FÍGADO DE <i>R. norvegicus</i> INTOXICADO COM <i>D. racemosa</i> . TRICRÔMICO DE MALLORY. OB. 40X.....	42

20	FIBROSE E INFILTRAÇÃO HISTIOLINFÓPLASMOCITÁRIA NO ESPAÇO PORTA NO FÍGADO DE <i>R. norvegicus</i> INTOXICADO COM <i>D. racemosa</i> . HEMATOXILINA DE HARRIS-EOSINA. OB. 40X.....	43
21	FOCO HISTIOLINFÓPLASMOCITÁRIO ISOLADO CIRCUNDANDO VASO DE PEQUENO CALIBRE E NO ESPAÇO PORTA NO FÍGADO DE <i>R. norvegicus</i> INTOXICADO COM <i>D. racemosa</i> . HEMATOXILINA DE HARRIS-EOSINA. OB. 40X.....	44
22	INFILTRADO HISTIOLINFÓPLASMOCITÁRIO AO REDOR DE VASO DO ESPAÇO PORTA NO FÍGADO DE <i>R. norvegicus</i> INTOXICADO COM <i>D. racemosa</i> . TRICRÔMICO DE MALLORY. OB. 40X.....	45
23	HIPERPLASIA DE DUCTOS BILIARES NO FÍGADO DE <i>R. norvegicus</i> INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM <i>D. racemosa</i> . TRICRÔMICO DE MALLORY. OB. 40X.....	46
24	AUMENTO E DESARRANJO DA REDE RETICULAR NO FÍGADO DE <i>R. norvegicus</i> INTOXICADO COM <i>D. racemosa</i> . TÉCNICA DE RIO HORTEGA PARA FIBRAS RETICULARES. OB. 10X.....	47
24A	AUMENTO E DESARRANJO DA REDE RETICULAR NO FÍGADO DE <i>R. norvegicus</i> INTOXICADO COM <i>D. racemosa</i> . TÉCNICA DE RIO HORTEGA PARA FIBRAS RETICULARES. OB. 40X.....	48
25	TÚBULOS CONTORNADOS DILATADOS. PRESENÇA DE PROTEÍNA NA LUZ TUBULAR E NO ESPAÇO DE BOWMAN NO RIM DE <i>R. norvegicus</i> INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM <i>D. racemosa</i> . HEMATOXILINA DE HARRIS-EOSINA. OB. 40X.....	50
26	ERITRÓCITOS NO ESPAÇO DE BOWMAN E NA LUZ TÚBULAR NO RIM DE <i>R. norvegicus</i> INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM <i>D. racemosa</i> . TRICRÔMICO DE MALLORY. OB. 40X.....	51

LISTA DE TABELAS

1	QUANTIDADE E CONCENTRAÇÃO DA SUSPENSÃO AQUOSA DE <i>D. racemosa</i> ADMINISTRADA DIARIAMENTE PARA CADA ANIMAL NOS RESPECTIVOS TRATAMENTOS, COM EXCESSÃO DO GRUPO TESTEMUNHA (T-5) QUE RECEBEU SOMENTE ÁGUA DESTILADA.	25
2	ASPECTOS MICROSCÓPICOS OBSERVADOS NO ESTÔMAGO DE <i>R. norvegicus</i> NOS TRATAMENTOS T-1, T-2, T-3 E T-4.....	30
3	ASPECTOS MICROSCÓPICOS OBSERVADOS NO INTESTINO DELGADO DE <i>R. norvegicus</i> NOS TRATAMENTOS T-1, T-2, T-3 E T-4.....	33
4	ASPECTOS MICROSCÓPICOS OBSERVADOS NO FÍGADO DE <i>R. norvegicus</i> NOS TRATAMENTOS T-1, T-2, T-3 E T-4.....	37
5	ASPECTOS MICROSCÓPICOS OBSERVADOS NOS RINS NOS TRATAMENTOS T-1, T-2, T-3 E T-4.....	49
6	ANÁLISE QUÍMICA DAS PARTES AÉREAS DESSECADAS E MOÍDAS DE <i>D. racemosa</i> EFETUADA NO LABORATÓRIO DE ALIMENTOS DO TECPAR-PR.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

-	-AUSENTE
±	-ESCASSO
+	-ESCASSO A MODERADO
++	-MODERADO
+++	-MODERADO A ACENTUADO
++++	-ACENTUADO
HLP	-HISTIO-LINFOPLASMOCITÁRIO
LP	-LINFOPLASMOCITÁRIO
LPN	-LINFOPLASMOCITÁRIO E NEUTROFÍLICO

RÉSUMO

Foram avaliadas as alterações morfológicas através de microscopia óptica do estômago, intestino delgado, fígado e rins de ratos (*Rattus norvegicus*) intoxicados experimentalmente com suspensão aquosa das partes aéreas de *Daphnopsis racemosa* Griseb. (embira-branca). A suspensão aquosa obtida das folhas e ramos da planta previamente dessecadas, moídas e dissolvidas em água destilada foi administrada concentrada e em diluições crescentes para cada grupo experimental: tratamento 1 (T-1), 2 (T-2), 3 (T-3) e 4 (T-4), por via oral, uma vez ao dia, durante 30 dias consecutivos, através de sonda orogástrica flexível. Os ratos do grupo testemunha (T5) receberam apenas água destilada. Os pesos de cada animal foram registrados em várias fases do experimento e analisados através de gráfico. No final do período do experimento realizou-se o sacrifício dos animais. Após avaliação macroscópica, os órgãos foram fixados em solução de formol a 10% e processados conforme técnicas histológicas. Macroscopicamente, os ratos apresentaram congestão hepática, espessamento da parede intestinal com a serosa e a mucosa avermelhadas. Ao exame histopatológico, foi observada gastroenterite catarral em todos os grupos, aumentando proporcionalmente nos animais que receberam maior concentração da suspensão aquosa da planta. Em fígado observou-se megalocitose, necrose de hepatócitos isolados e centrolobular, hemorragias focais, fibrose nos espaços Porta e hiperplasia ductal. O quadro renal foi o de leve nefrose. As lesões foram proporcionalmente mais acentuadas nos grupos que receberam maior concentração da suspensão aquosa da planta.

ABSTRACT

The morphological alterations of the stomach, small intestine, liver and kidneys of the rats (*Rattus norvegicus*) which were experimentally intoxicated, with water suspensions from the aerial parts of *Daphnopsis racemosa* Griseb. (embira-branca) were evaluated by means of optical microscopy. The water suspension was obtained from aerial parts of the plant previously dehydrated, ground and dissolved in distillate water, and it was administered concentrated and in increased dilution through a flexible oral-gastric catheter once a day for 30 consecutive days, to each experimental groups: Groups 1 (T-1), 2 (T-2), 3 (T-3) and 4 (T-4). The rats from the control group (T-5) received only distillate water. The weight of each animal was checked in several phases of the experiment and analyzed through graphs. At the completion of the experiment the animals were sacrificed. After the macroscopic examination, the organs were fixed in a 10 % formol solution and processed in accordance to following routine histological. In the macroscopic exam, the rats showed hepatic congestion, the intestinal wall became thicker than control group with reddish mucosa and serosa. In the histopathological examinations, catarrhal gastroenteritis was observed in all groups, and it increased proportionally in the animals which had received greater concentration of the plant's water suspension. In the livers were observed megalocytosis, necrosis of isolated and centrilobular hepatocytes, focused hemorrhages, fibrosis in the Porta's spaces and ductal hyperplasia. The nephric state was of light nephrosis. The lesions were proportionally more accentuated in the groups which had received greater concentration of the plant's water suspension.

1 INTRODUÇÃO

Desde os tempos mais remotos, as plantas medicinais e tóxicas estiveram cercadas de mistérios que muitas vezes hoje, apesar de todos os avanços científicos e tecnológicos, ainda persistem. Nenhum outro campo tem tantas superstições tão persistentes.

Daphnopsis racemosa Griseb. é uma planta da família Thymelaeaceae comumente conhecida como embira (do tupi e'bira) ou embira-branca, sendo freqüentemente apontada como tóxica para bovinos pelos pecuaristas.

É fato corrente no meio rural de mortes atribuídas à embira, principalmente de bovinos quando ingerem a planta murcha (parcialmente dessecada) após as roçadas das pastagens. Talvez o odor, o sabor ou a consistência desperte o interesse dos animais, em especial dos famintos ou recém introduzidos à pastagem, provenientes de regiões isentas dessa planta, tendo em vista que a embira-branca no seu estado natural normalmente não é ingerida pelos bovinos.

É comum por essa razão, após a roçada, retirar as plantas cortadas ou arrancadas das pastagens e locais freqüentados pelos animais, ou simplesmente evitar o corte ou poda das mesmas.

A casca da embira é bastante utilizada pelos rurícolas para substituir cordas e barbantes. Contudo não há relatos de intoxicações ou lesões cutâneas em seres

humanos pela manipulação da planta na região de Castro-PR, de onde foi colhido o material para o experimento.

D. racemosa é uma planta pouco estudada no que diz respeito a suas propriedades tóxicas, o que leva a uma escassa e antiga literatura científica com repetidas citações.

O objetivo do presente trabalho é o estudo das alterações morfológicas decorrentes dos possíveis efeitos tóxicos da ingestão de *D. racemosa* no estômago, intestino delgado, fígado e rins, usando como modelo experimental ratos albinos (*R. norvegicus*) variedade Wistar, extrapolando os resultados para as demais espécies domésticas de interesse econômico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Segundo CARNEIRO (1945) em regiões de economia agropecuária a intoxicação por plantas tóxicas tem acarretado grandes prejuízos aos pecuaristas. O problema é agravado em épocas de escassez de alimento para o gado, quando as plantas tóxicas são consumidas pelos animais.

TOKARNIA *et al.* (1979) citam que planta tóxica, sob o ponto de vista pecuário, é aquela que quando ingerida pelo animal em condições naturais, causa danos a sua saúde ou o leva à morte.

Para HOEHNE (1939) o maior perigo de intoxicação para o gado ocorre entre maio e setembro quando a forragem começa a ficar escassa.

O mesmo autor afirma que a família Thymelaeaceae pertence à série das Myrtifloras que compreende 16 famílias sendo que metade delas tem importância toxicológica. Seus representantes não ultrapassam quatrocentos e se acham subordinados à trinta e oito gêneros distintos. Quanto a distribuição geográfica da família Thymelaeaceae, diz serem cosmopolitas, ausentes apenas nas regiões polares. Cita também que criadores de gado da América do Norte, Europa e África costumam incriminar as plantas da família Thymelaeaceae pela morte de animais.

De acordo com HOEHNE (1939) o gênero *Daphnopsis* ocorre em todo Brasil e tem maior representação nas matas de serras e cursos fluviais. O mesmo autor corroborado por MINARDI et al. (1980), afirmam que *D. racemosa*, conhecida popularmente por embira-branca, é uma planta de tipo arborescente ou de arbusto cujo *habitat* natural são pântanos, capões de mato, margens de riachos e orlas das pastagens naturais, locais estes freqüentados pelos animais. Os mesmos autores confirmados por BETTIOL et al. (1970) descrevem uma entrecasca fortemente fibrosa. As folhas são sempre inteiras e simples, ora alternadas em espirais, ora opostas, sem estipulas. As flores são geralmente esbranquiçadas e pouco distintas, dispostas em curtos racemos ou em fascículos axilares, terminais ou supra axilares formando muitas vezes curtas umbelas ou ficando solitárias nas axilas das folhas.

O mesmo autor menciona que o termo embira também é usado para designar outras plantas de casca com características têxteis.

Quanto aos princípios tóxicos, HOEHNE (1939) afirma serem a daphnina, um alcalóide amargo, uma resina de consistência mole e esverdeada e a mezereína, um ácido anídrico altamente tóxico, freqüente especialmente nas espécies de *Daphnopsis*, *Daphne*, *Passerina*, *Gnidia* e *Funifera*, as substâncias tóxicas encontradas nas plantas da família Thymelaeacea.

KUNKEL, citado por HOEHNE (1939) afirma que as plantas da família Thymelaeaceae são tóxicas. Todas as partes das plantas: cascas, folhas, flores, frutos e a entrecasca são ricas de substâncias tóxicas das quais a mezereína é a mais nociva. GARNER (1967) diz que os frutos e principalmente a casca contém a resina mezereína esta última também contém o glicosídeo daphnina. BETTIOL et al. (1970) confirmam que o princípio tóxico da *D. racemosa* é a resina denominada mezereína, encontrada nas folhas, cascas e frutos.

Segundo FROHNE et al. (1984) no que concerne a composição química de suas substâncias ativas, as plantas da família Thymelaeaceae se caracterizam pela presença da daphnina, um éster com um esqueleto diterpenoide (daphnane). Este éster diterpeno tóxico causa a inflamação da pele induzindo rubor, formação de edema, tumor e vesículas e, quando ingerido, causa severa gastroenterite, vômitos e diarréias com cólicas.

Foi em 1970 que os princípios tóxicos da casca, a daphnetoxina e dos frutos, a mezereína, foram isolados de *D. mezereum* e suas estruturas elucidadas por STOUT [1] et al. e SCHILDKNECHT [2] et al. citados por FROHNE et al. (1984).

[1] STOUT, et al. The isolation and structure of daphnetoxin, the poisonous principle of *Daphne* species. **J. Am. Chem. Soc.** n. 92, p.1070-1071, 1970.

[2] SCHILDKNECHT, H.G. et al. Die struktur des mezereins aus der frucht des seidelbast *Daphne mezereum*. **Chemikerzeitung** n. 94, p.849, 1970.

As toxinas presentes na *D. mezereum*, a representante mais estudada da família Thymelaceae são compostos complexos denominados: daphnetoxina, mezereína, thymeleína, mezerenol, gnidizina e huratoxina, sendo um novo composto descoberto ainda não denominado segundo HABERMEHL (1992).

Para BETTIOL et al. (1970) a mezereína, o princípio tóxico da *D. racemosa*, é uma substância cáustica encontrada nas folhas, casca e frutos e não é destruída pela secagem. De acordo com GARNER (1967) a mezereína não é destruída pelo calor nem pela estocagem e é um veneno irritante.

O mesmo autor corroborado por BETTIOL et al. (1970) mencionam como sinais de intoxicação por plantas da família Thymeleaceae, intensa irritação gastrointestinal com cólicas e diarreias, prostração e colapso geral.

D. mezereum é apontada como tóxica há várias décadas, especialmente para crianças, com uma taxa de mortalidade em torno de 30%. A intoxicação ocorre pelo contato com a resina da planta que causa inflamação severa, formação de vesículas e necrose. A ingestão dos frutos causa sintomas mais severos: queimaduras na boca e garganta, inflamação das membranas mucosas, sendo a sede o primeiro sinal, seguida de diarreia sanguinolenta. O sistema nervoso central é também afetado e se manifesta por cefaléia, náuseas, vômitos, hipertermia, taquicardia e finalmente convulsões e morte. Os rins são também severamente lesados segundo HEBERMEHL (1992).

De acordo com SCHROFF citado por HOEHNE (1939) a deglutição de frutos de *D. mezereum* triturados provoca forte irritação gástrica, vômitos hemorrágicos e depois sobrem disenteria, colapso e morte. Observam-se hematúria, albuminúria e estrangúria. Injeções subcutâneas provocam inflamação purulenta sem intoxicação geral do organismo. HOEHNE (1939) menciona que no sistema digestivo os seus efeitos são mais evidentes por provocarem sérias lesões que muitas vezes podem determinar a morte do indivíduo.

STOUT [1] et al. citados por FROHNE et al. (1984) determinaram a DL50 no camundongo de 275µg/kg para a daphnetoxina.

HOWARD [3] et al. citados por FROHNE et al. (1984) afirmam que todas as partes da *D. mezereum* são tóxicas e dois ou três frutos podem matar uma criança e STOUT (1) et al. citados por FROHNE et al. (1984) confirmam que poucos frutos ou poucas gramas de cascas são fatais para homens, cães e cavalos. BETTIOL et al. (1970) e LIEBENOW [4] citado por FROHNE et al. (1984) dizem que menos de três frutos e 30 gramas de cascas de *D. mezereum* causam a morte de um suíno e de um equino respectivamente.

[3] HOWARD, et al. Living with poisonous plants. **Arnoldia** v.34, n.2, p. 41-96, 1974.

[4] LIEBENOW et al. **Ein Vademekum für tierärzte, humanmediziner, biologen und landwirte**, 2 ed., F. Enke: Stuttgart, 248pp., 1981

Segundo SCHROFF citado por HOEHNE (1939), dois ou três frutos de *D. mezereum* já provocam um efeito bastante grave e meia dúzia deles são suficientes para matar um lobo. Entretanto a toxicidade é variável, dependendo da parte da planta e do *habitat* onde ela se encontra.

Ainda HOEHNE (1939) afirma também que o néctar das flores de algumas espécies torna o mel venenoso. O mesmo autor relata que na África foi estudada a ação tóxica da *Gnidia burchelli* Meissn., administrando a um ovino 200 gramas da folha dessecada colhida na fase de floração, causando a morte dos animais três horas após a ingestão.

HOEHNE (1939) cita o uso da embira como catártico ou emético, entretanto com grandes danos para a saúde.

KUNKEL citado por HOEHNE (1939) menciona que os frutos de *D. mezereum* eram antigamente prescritos como purgativo. Segundo NÖLLER [5] citado por FROEHNE et al. (1984) devido ao sabor picante e presença de substâncias irritantes da pele, a casca (*Cortex mezerei*) e frutos (*Fructus coccognidii*) de *D. mezereum* e de outras espécies de *Daphne* foram usados como contra-irritativo na gota, reumatismo e muitas outras doenças, aplicando-se a planta localmente para produzir uma inflamação superficial com o objetivo de reduzir outra inflamação em tecidos profundos adjacentes.

[5] NÖLLER, H.G. Eine seidelbastintoxikation beim kinde. **Monatschr. Kinderheilk.** n.103, p.327-330, 1955.

O mesmo autor relata que os profissionais da mendicância usavam dos efeitos irritantes da pele para produzir feridas com o intuito de sensibilizar as pessoas.

De acordo com HOEHNE (1939) *D. racemosa* serve para a produção de fibras têxteis e os rurícolas a utilizam principalmente para a confecção de pequenas cordas. O mesmo autor cita que a entrecasca das plantas da família Thymelaeaceae são ricas em substâncias tóxicas cáusticas, que na mucosa oral provocam forte ardor e sobre a epiderme provocam edema e eritema. HOEHNE (1939) corroborado por BETTIOL *et al.* (1970) alertam para os sérios riscos de lesões cutâneas e nas mucosas por contato com a seiva por pessoas que se ocupam da extração de *D. racemosa*.

MacLACHLAN (1990) cita que uma grande variedade de plantas pode causar lesão hepática, sendo as lesões características mais usualmente observadas a megalocitose, necrose hepatocelular focal, fibrose, hiperplasia biliar, necrose centrolobular e colestase canalicular.

JONES *et al.* (1983); JUBB *et al.* (1990) e THOMSON (1990) são unânimes em afirmar que o tóxico ingerido produz lesões na mucosa do aparelho digestivo. Depois de absorvidos lesam o fígado e rins. Naturalmente o grau de lesão depende de vários fatores como espécie animal, grau de toxicidade, estação do ano e *habitat* da planta, quantidade ingerida e variações individuais de cada animal.

Citam que a variedade de plantas capazes de produzir hepatotoxicidade é extremamente grande.

Segundo HECKER [6] citado por FROHNE et al. (1984) experimentos em animais mostraram que a mezereína, além da propriedade de irritante da pele, também tem atividade co-carcinogênica.

MINARDI et al. (1980) administraram experimentalmente folhas de embira (*D. racemosa*) para bovinos durante cinco dias para dois animais nas dose de 2,0 g. e 5,0 g./kg P.V. por via oral respectivamente e 10,0 g./kg P.V. para um terceiro animal durante nove dias. Este foi sacrificado e necropsiado. Clinicamente todos apresentaram diarréia negra e sialorréia, e a lesão mais significativa no exame *post-mortem* foi gastroenterite. O exame histopatológico mostrou gastroenterite catarral, hepatite abscedante focal e broncopneumonia purulenta focal com presença de raros cortes de helmintos. Os outros dois animais se recuperaram espontaneamente em 15 dias. Os autores concluíram que a planta verde é de baixa ou nula aceitabilidade. Murcha e dessecada e misturada à ração também não foi espontaneamente aceita pelos animais. Quantidades inferiores a 10,0 g./kg P.V. não foram letais para os bovinos durante nove dias. Os sinais não foram evidentes com exceção da diarréia e a recuperação foi espontânea em 15 dias.

[6] HECKER, E. Chemische carcinogene pflanzlicher herkunft. *Dtsch. Apoth. Ztg.* n.111, p.2002, 1971

TOKARNIA et al. (1994) após realizar diversos experimentos com *Daphnopsis spp.* e outras "embiras" frescas, recém-colhidas e dessecadas, provenientes dos municípios de Itaqui-RS, Uruguaiana-RS e Santa Maria-RS, em bovinos e ovinos, em dose única, verificou que a principal manifestação clínica apresentada pelos animais foi diarreia, observando que o quadro clínico-patológico experimental não era tão grave quanto aquele em geral atribuído às embiras, e que em função da má palatabilidade dessas plantas, afirmaram ser pouco provável que as "embiras" constituam problema para a criação.

ALVES [7] (1995) observou, como achado de necropsia, grande quantidade de folhas e ramos de embira-branca no rúmem de bufalinos, na região de São João do Triunfo-PR às margens do rio Tibagi, que foram à óbito nos meses de julho e agosto de 1995 com sinais de fraqueza e paresia. As lesões histopatológicas observadas nos órgãos desses bufalinos foram megalocitose e necrose de hepatócitos, hepatite crônica focal, nefrose e enterite catarral hemorrágica estas compatíveis com intoxicação.

Não se conhece um antídoto para os casos de intoxicação, não há tratamento específico, apenas sintomático segundo BETTIOL et al. 1970.

[7] ALVES, G.C. Comunicação pessoal de observações necroscópicas em bubalinos, acompanhado de laudo de exame histopatológico n. H-01291/95/Panlab, 1995.

NÖLLER [5] citado por FROHNE *et al.* (1984) recomenda lavagem gástrica e uso de substâncias adstringentes para a inflamação das membranas mucosas e uso de fenobarbitone para os sinais neurológicos e atropina para a persistente salivação e náusea.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL

O experimento foi realizado no Laboratório de Ensaio Biológicos da Divisão de Análises Biológicas do TECPAR-PR (Instituto de Tecnologia do Paraná) onde os animais permaneceram durante toda a fase de adaptação e experimental.

A desidratação e moagem da planta foi realizada no Laboratório de Nutrição e Agrostologia do Departamento de Zootecnia do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

A pesquisa de aflatoxina da ração animal consumida pelos ratos do experimento e a análise química da planta foi efetuada no Laboratório de Bromatologia e de Alimentos da Divisão de Química Inorgânica do TECPAR-PR.

Os exames coproparasitológicos, processamento histológico, leitura e descrição das lâminas e realização de fotomicrografias foram executados no PANLAB Laboratório de Patologia Animal Ltda.

3.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Como modelo experimental, utilizou-se 25 ratos albinos (*Rattus norvegicus norvegicus*, Berbenhout, 1796), machos, Wistar, adultos, com peso médio inicial de 280 gramas, procedentes do biotério do TECPAR-PR.

Os ratos passaram por um período de adaptação e observação durante duas semanas nos quais foram realizados dois exames coproparasitológicos, antes da montagem dos grupos, acusando presença de raros oocistos de *Eimeria*, e após a administração de coccidicida a base de Sulfametazina, Sulfaquinoxalina e Nitrofurazona (VETOCOC SM®-A Quimica Santa Marina S.A.) usado conforme instruções do fabricante (4 gramas diluídos em 2 litros de água fornecido nos bebedouros como única fonte de líquido durante 3 dias consecutivos). As fezes foram obtidas individualmente através de massagem abdominal e examinadas como um "pool" pelos métodos de Willis-Mollay; Hoffmann-Ponsjaner; Faust e colaboradores, técnicas de flutuação e sedimentação e pesquisa de protozoários respectivamente. O exame coproparasitológico, 5 dias após a administração do coccidicida, foi negativo para ovos, larvas e protozoários intestinais.

Os animais foram pesados, e divididos em 4 tratamentos com 5 repetições cada, mais um tratamento testemunha com 5 repetições, sendo os valores individuais

registrados, num total de cinco pesagens durante o experimento.

Cada grupo recebeu diariamente ração industrializada peletizada específica para ratos (NUVILAB CR1 - Nuvital Nutrientes Ltda.), água tratada da rede fornecida em bebedouros de vidro *ad libbitum*. Os animais foram mantidos durante todo o período de adaptação e experimental no Laboratório de Ensaio Biológicos da Divisão de Análise Biológicas do TECPAR-PR, com ambiente controlado diariamente e monitoramento constante (temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade 40-70%) conforme manejo recomendado por HARKNESS *et al.* (1993).

Amostra da ração consumida pelos animais foi encaminhada para o Laboratório de Alimentos da Divisão de Química Inorgânica do TECPAR-PR para pesquisa de aflatoxina (micotoxina comum em alimentos armazenados em locais propícios para desenvolvimento de fungos, que ingeridos causam lesões em diversos órgãos, principalmente no fígado) tendo resultado negativo, ou seja aflatoxina não detectada a nível de 4 $\mu\text{g/kg}$ segundo AOAC-OFFICIAL METHODS OF ANALYSES (1984).

Os animais foram pesados 5 vezes, no primeiro dia, a cada semana e observados diariamente até o término do experimento.

3.3 MATERIAL TESTE

Antes do início do experimento, partes da planta (ramos, folhas, flores e frutos) (fig. 1, 2, 2A, 3 e 4) além de fotografias da mesma em seu *habitat* (fig. 5) foram encaminhadas para o Museu Botânico-PR para identificação e classificação pelo Prof. Gerdt Hatschbach com confirmação por comunicação pessoal (Thymelaceae - *Daphnopsis racemosa* Griseb.).

As partes aéreas da embira-branca (folhas e ramos) foram colhidas na Região de Castro-PR em abril de 1994 e dessecadas parcialmente à sombra em temperatura ambiente por 24 horas. Posteriormente foram levadas ao Laboratório de Nutrição e Agrostologia do Departamento de Zootecnia no SCA/UFPR onde foram desidratadas em estufa a 40°C com ar circulante durante três semanas e moídas em moinho (Standard Modelo nº3 Willey Mill USA com peneira 4275 C $\frac{1}{2}$ mm). O pó volumoso e fibroso obtido foi conservado em frasco de vidro fechado com tampa plástica ao abrigo da luz e calor, em temperatura ambiente, até o momento da utilização (fig. 6). A relação do peso entre o material fresco e o dessecado foi de 2,2:1

FIGURA 1 - ASPECTO DAS FOLHAS INTEIRAS E SIMPLES, ORA ALTERNADAS EM ESPIRAIS, ORA OPOSTAS, SEM ESTÍPULAS DE *D. racemosa* (EMBIRA-BRANCA).



FIGURA 2 - FOLHAS SIMPLES E SEM ESTÍPULAS DE *D. racemosa*
OBSERVANDO-SE ESTRUTURA BASTANTE FIBROSA(→).



FIGURA 2A - ESTRUTURA FIBROSA DA FOLHA DE *D. racemosa*. FILTRO DE POLARIZAÇÃO. OB. 40X.

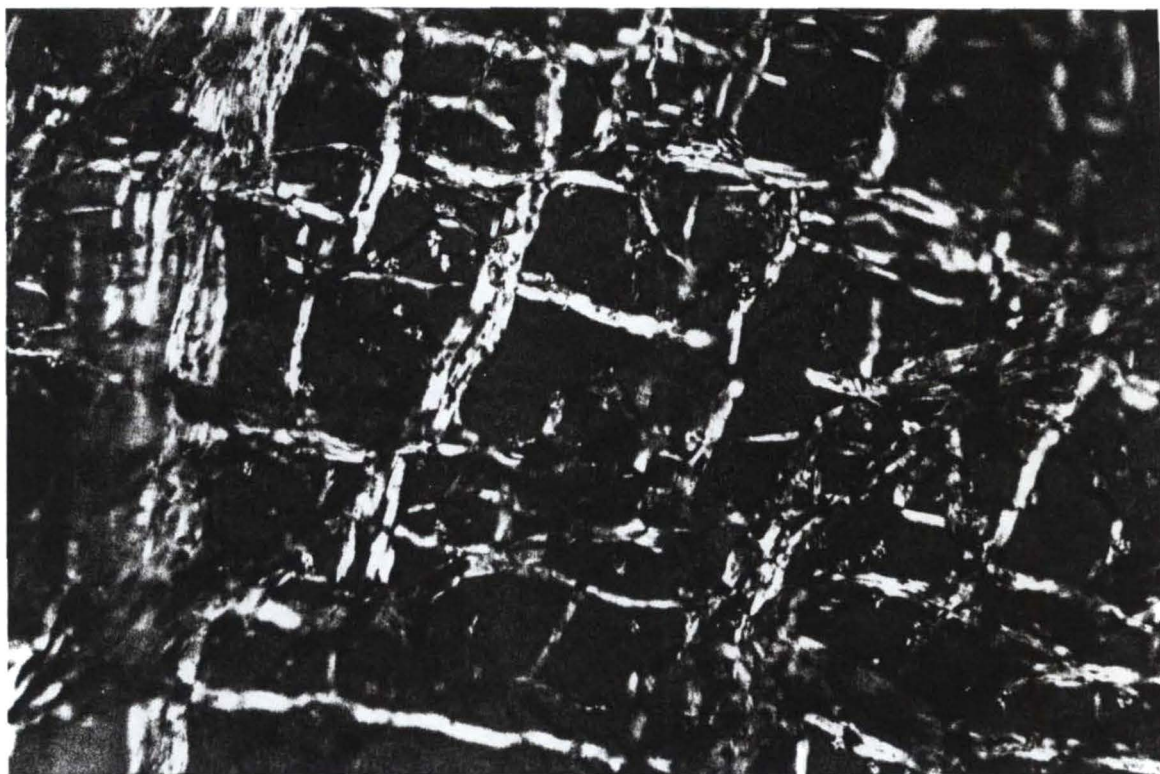


FIGURA 3 - FLORES ESBRANQUIÇADAS E POUCO DISTINTAS DISPOSTAS EM FASCÍCULOS AXILARES E CURTOS RÁCEMOS (→) DE *D. racemosa*.



FIGURA 4 - ASPECTO DOS FRUTOS DE *D. racemosa*.

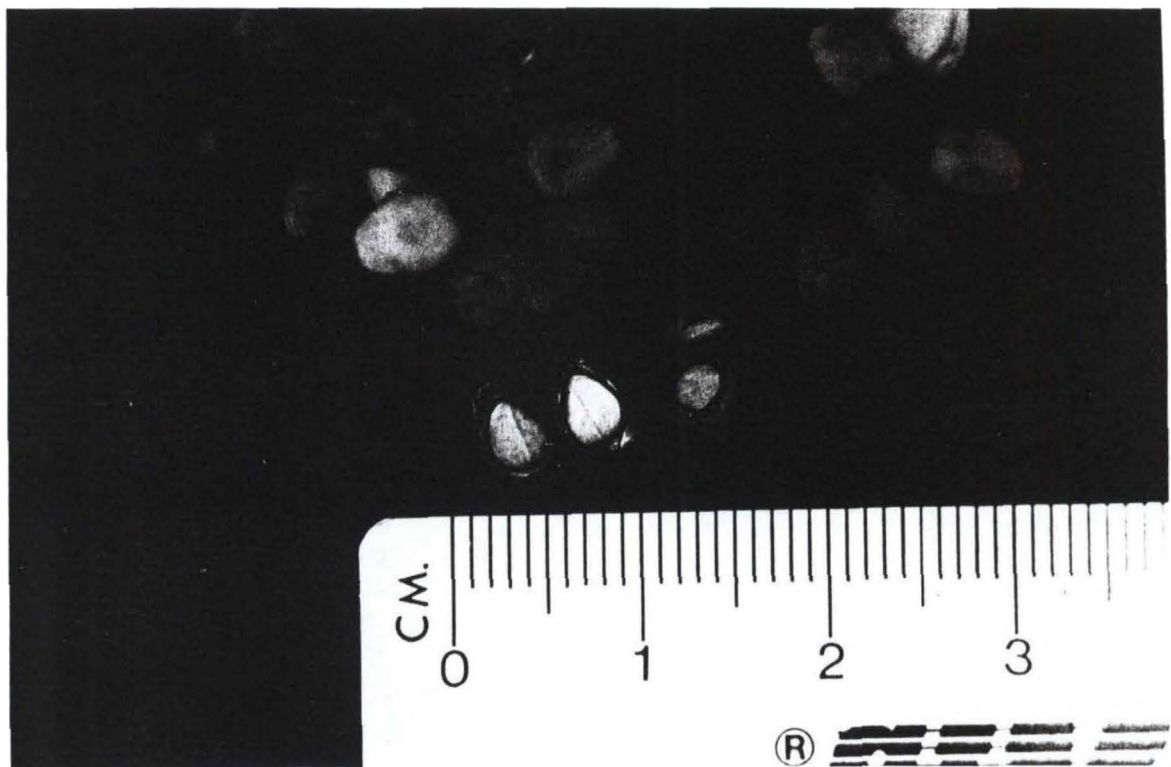



FIGURA 5 - *D. racemosa* EM SEU *habitat* NATURAL OBSERVANDO-SE O TIPO ARBORESCENTE E DE ARBUSTO NA MARGEM DE RIACHO E ORLA DE PASTAGEM EM CASTRO-PR().



FIGURA 6 - PARTES AÉREAS DE *D. racemosa* DESSECADAS E MOÍDAS.



3.3.1 Obtenção da Suspensão Aquosa

Diariamente eram pesadas 20 gramas da planta dessecada e moída, correspondente a 44,4 gramas da planta verde, misturada em 100 ml de água destilada e mantida em estufa a 37°C. Após 24 horas e imediatamente antes da utilização, a mistura era coada em peneira de malha plástica obtendo-se a suspensão concentrada.

3.4 METODOLOGIA

A suspensão obtida foi administrada pura, através de sonda orogástrica plástica e flexível, manufaturada com uma seringa de vidro (Beckton Dickinson) de 5 ml com uma sonda uretral plástica flexível nº10 adaptada (figs. 7 e 8) na dose de 3 ml por animal, ao tratamento 1 (T1); diluída 1:2 (10 ml do produto mais 10 ml de água destilada) na dose de 3 ml por animal ao tratamento 2 (T2); diluído 1:3 (5 ml do produto mais 10 ml de água destilada) na dose de 3 ml por animal ao tratamento 3 (T3); diluído 1:5 (5 ml do produto para 20 ml de água destilada) na dose de 3 ml por animal ao tratamento 4 (T4) e o grupo testemunha 5 (T5) recebendo 3 ml de água destilada.

TABELA 1 - QUANTIDADE E CONCENTRAÇÃO DA SUSPENSÃO AQUOSA DE *D. racemosa* ADMINISTRADA DIARIAMENTE PARA CADA ANIMAL NOS RESPECTIVOS TRATAMENTOS, COM EXCESSÃO DO GRUPO TESTEMUNHA (T-5) QUE RECEBEU SOMENTE ÁGUA DESTILADA.

GRUPO	SUSPENSÃO	ÁGUA	PROPORÇÃO	VOLUME	GRAMAS DA
	ml	DESTILADA		ADMINISTRADO	PLANTA
		ml		ml	DESSECADA E
					MOÍDA/3ml/DIA
T1	PURA	0	PURA	3	0,6
T2	10	10	1:2	3	0,3
T3	5	10	1:3	3	0,19
T4	5	20	1:5	3	0,12
T5	0	15	0	3	0,0

Ao completarem 30 dias do experimento os animais foram sacrificados por inalação de éter sulfúrico anestésico (BIOPHAR - Anadiol Ind. e Com. de Prod. Químicos) e fixados em pranchas de isopor com tiras de esparadrapo para exposição dos órgãos. Após a exposição das cavidades abdominal e torácica, foi realizado o exame macroscópico dos órgãos (fig. 9).

Fragmentos de estômago, intestino delgado, fígado e rins foram fixados em solução de formol a 10% para exames histopatológicos. Os exames anatomopatológicos foram realizados no PANLAB Laboratório de Patologia Animal Ltda.

Os fragmentos de órgãos fixados foram recortados, desidratados, diafanizados, incluídos em parafina, recortados a 5 micrômetros e corados pelas técnicas de Hematoxilina de Harris-Eosina, Tricrômico de Mallory e

Técnica de Rio Hortega para fibras reticulares segundo MICHALANY (1980) e Hematoxilina de Verhoeef para fibras elásticas por KRAJIAN et al. (1952).

Após descrição microscópica, lâminas selecionadas foram fotomicrografadas.

FIGURA 7 - SONDA OROGÁSTRICA UTILIZADA NO ENSAIO BIOLÓGICO DE INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL EM RATOS (*R. norvegicus*) COM SUSPENSÃO AQUOSA DE *D. racemosa*.

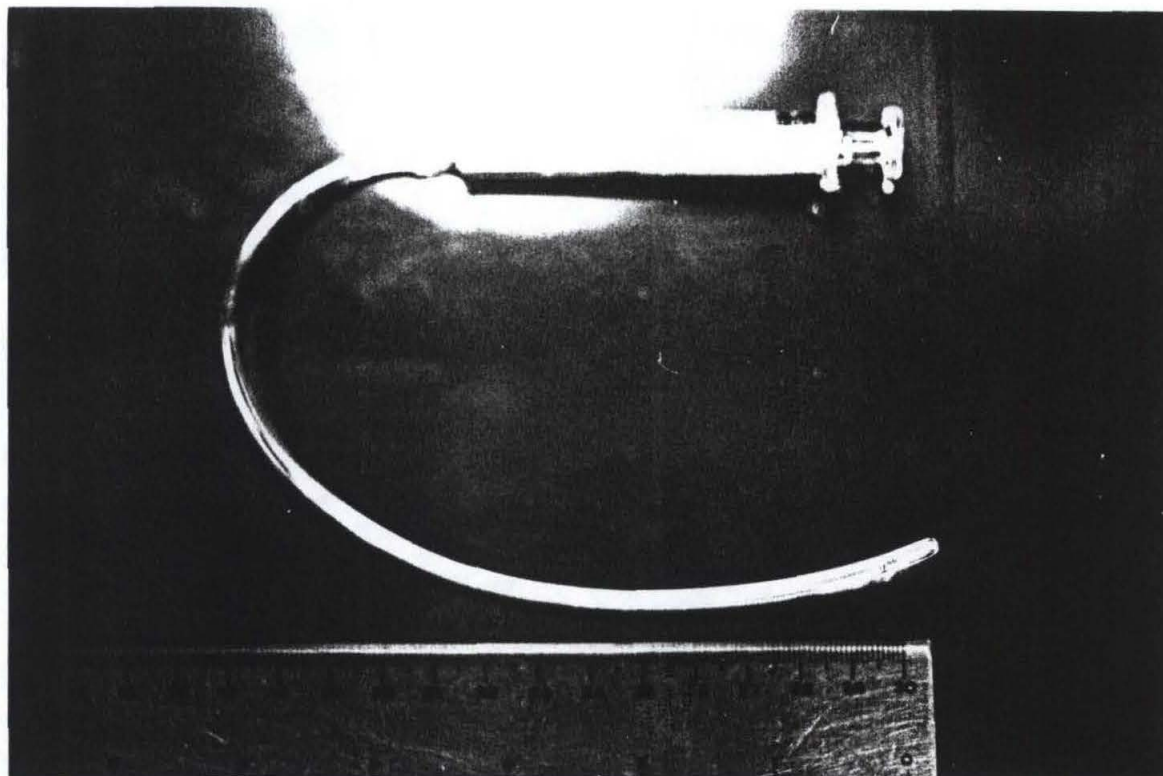


FIGURA 8 - RATO ALBINO (*R. norvegicus*) RECEBENDO SUSPENSÃO
AQUOSA DE *D. racemosa* ATRAVÉS DE SONDA
OROGÁSTRICA.

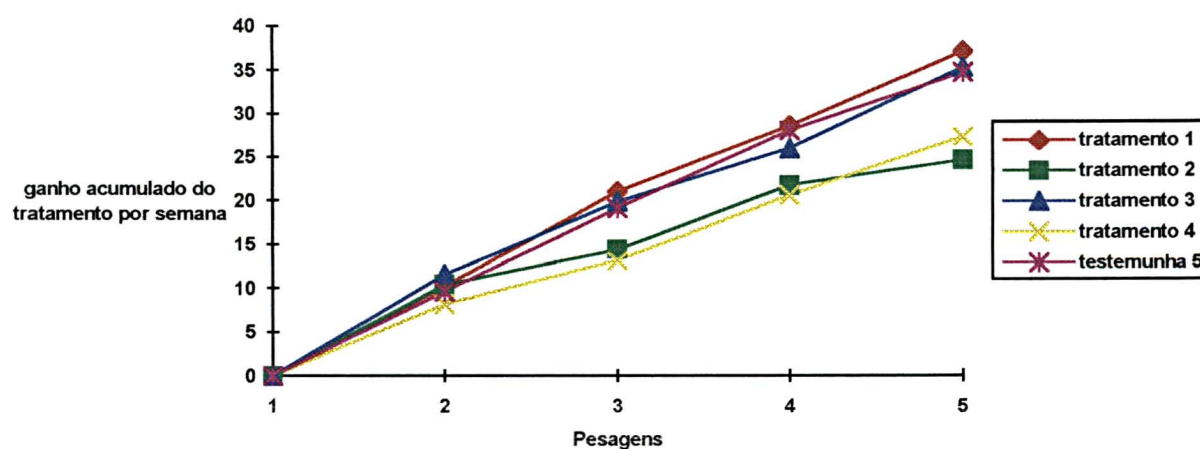


4 RESULTADOS

4.1 ASPECTOS CLÍNICOS

Durante o experimento os animais dos tratamentos T-1, T-2, T-3 e T-4, não mostraram sinais clínicos significativos, apresentando ganho constante de peso (fig. 9).

FIGURA 9 - GANHO DE PESO ACUMULADO POR SEMANA DE CADA TRATAMENTO E DO GRUPO TESTEMUNHA DURANTE O EXPERIMENTO.



	1	2	3	4	5
T-1	0	10.24	21.04	28.6	37.12
T-2	0	10.4	14.428	21.76	24.62
T-3	0	11.56	19.9	26	35.3
T-4	0	8.162	13.142	20.6	27.34
T-5	0	9.64	19.14	28.06	34.74

4.2 ASPECTO MACROSCÓPICO DOS ÓRGÃOS

Macroscopicamente os estômagos tinham a mucosa avermelhada, sendo mais acentuada nos animais do tratamento 1 (T-1) que por sua vez haviam recebido a suspensão aquosa concentrada.

O intestino delgado apresentava aumento no diâmetro e espessamento das paredes, a mucosa era avermelhada.

Os fígados dos animais, de todos os grupos, estavam congestos (fig. 10)

Os rins não mostraram alterações macroscópicas significativas.

FIGURA 10 - CONGESTÃO HEPÁTICA EM (*R. norvergicus*) INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM *D. racemosa*.



4.3 ASPECTOS MICROSCÓPICOS DOS ÓRGÃOS

4.3.1 Aspecto Microscópico do Estômago



A mucosa gástrica de todos os animais mostram hiperemia, leve edema, infiltração linfoplasmocitária e necrose de células epiteliais (fig. 11) . Existe leve edema na submucosa, e na camada basal da mesma há leve exsudação neutrofílica. Na região aglandular observou-se hiperqueratose e infiltração linfoplasmocitária e neutrofílica (fig. 12).

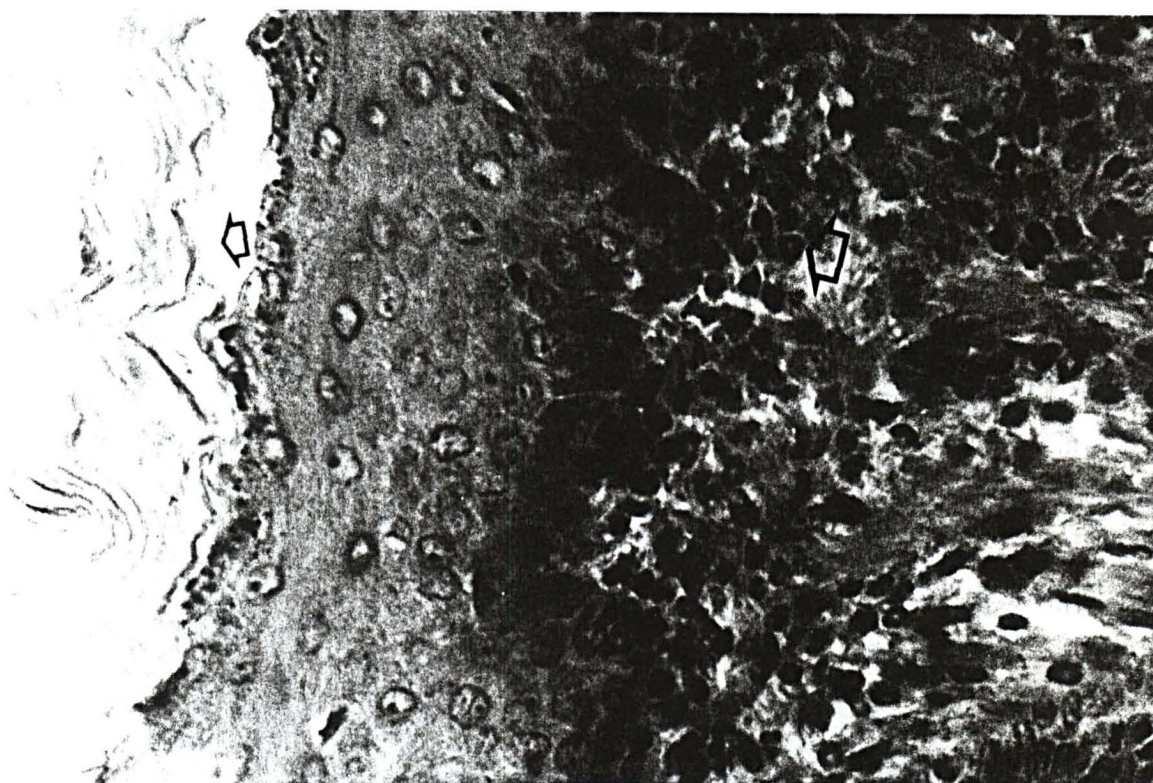
TABELA 2 - ASPECTOS MICROSCÓPICOS OBSERVADOS NO ESTÔMAGO DE *R. norvegicus* NOS TRATAMENTOS T-1, T-2, T-3 E T-4.

ESTÔMAGO	T-1	T-2	T-3	T-4
HIPEREMIA	+	+	+	+
EDEMA NA MUCOSA	+	-	-	-
INFILTRAÇÃO MONOMORFONUCLEAR NA MUCOSA	+	+	-	-
NECROSE	+	-	-	-
EXSUDATO NEUTROFÍLICO NA CAMADA BASAL	+++	++	-	-
INFILTRADO LP NA MUCOSA GLANDULAR	+	++	-	-
INFILTRADO LPN NA AGLANDULAR	-	+	-	-
HIPERQUERATOSE	+++	++	+	+

FIGURA 11 - NECROSE DE CÉLULAS EPITELIAIS NA TÚNICA MUCOSA DO ESTÔMAGO DE *R. norvegicus* INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM *D. racemosa* (➤). HEMATOXILINA DE HARRIS-EOSINA. OB. 40X.



FIGURA 12 - REGIÃO AGLANDULAR DO ESTÔMAGO DE *R. norvegicus* COM HIPERQUERATOSE () E INFILTRAÇÃO LINFOPLASMOCITÁRIA E EXSUDAÇÃO NEUTROFÍLICA () APÓS INTOXICAÇÃO COM *D. racemosa*. TRICRÔMICO DE MALLORY. OB. 40X.



4.3.2 Aspecto Microscópico do Intestino Delgado

Nos cortes de intestino delgado existem hiperemia, moderada infiltração linfoplasmocitária na túnica mucosa (fig. 13). Existe hiperplasia de células caliciformes. Figuras de mitoses as vezes são abundantes. Em algumas áreas observa-se descolamento da camada epitelial do córion da vilosidade (fig. 14). O bordo em escova apresenta-se preservado.

TABELA 3 - ASPECTOS MICROSCÓPICOS OBSERVADOS NO INTESTINO DELGADO DE *R. norvergicus* NOS TRATAMENTOS T-1, T-2, T-3 E T-4.

INTESTINO	T-1	T-2	T-3	T-4
HIPEREMIA	+	+	+	+
HIPERPLASIA DE CÉLULAS CALICIFORMES	++	+	+	+
INFILTRAÇÃO HLP NA TÚNICA MUCOSA	++	++	+	+
DESCOLAMENTO DA CAMADA EPITELIAL DO	++	++	+	±
CÓRION DAS VILOSIDADES				
MITOSES	++	+	-	-

FIGURA 13 - MODERADA INFILTRAÇÃO LINFOPLASMOCITÁRIA NA TÚNICA MUCOSA (→) DO INTESTINO DELGADO DE *R. norvegicus* INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM *D. racemosa*. HEMATOXILINA DE HARRIS-EOSINA. OB.40X.

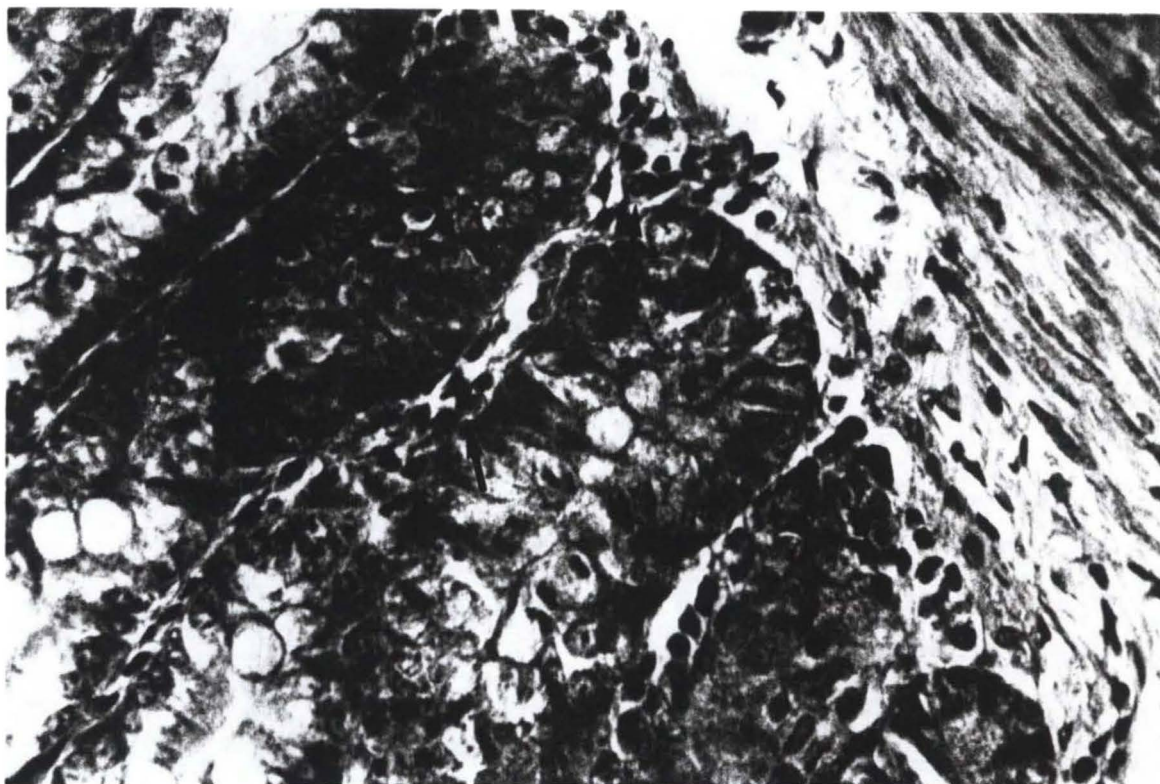


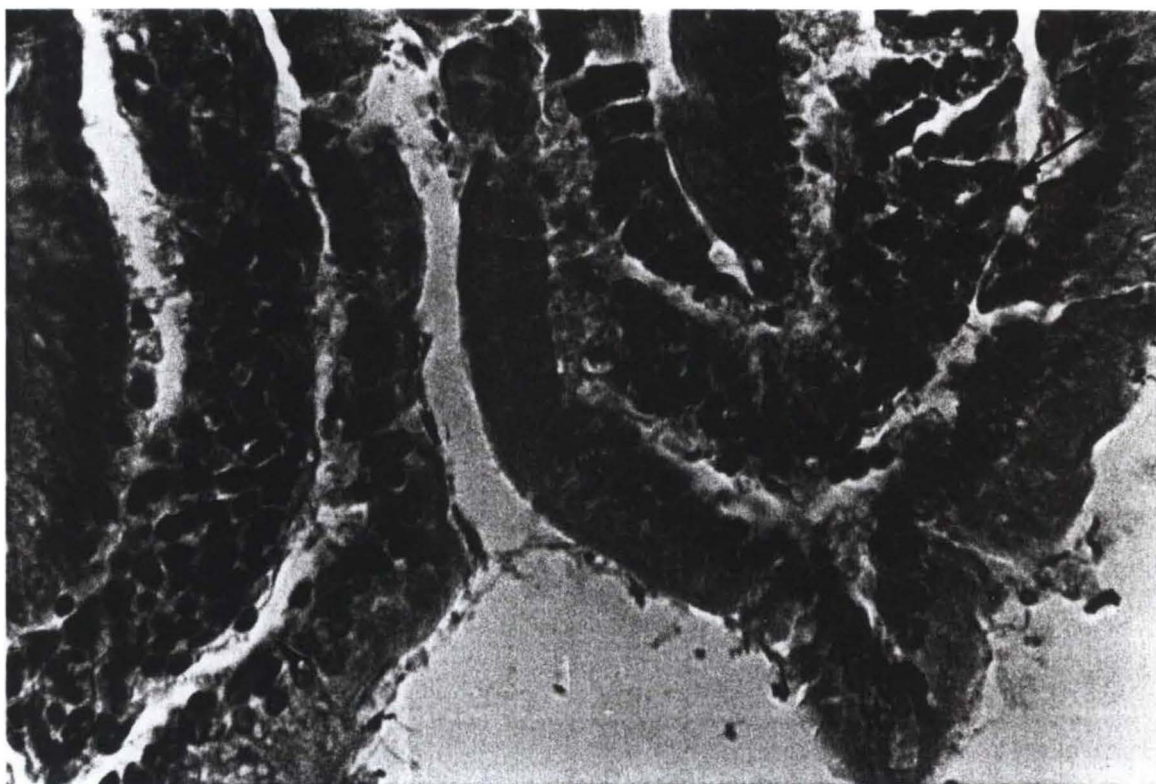


FIGURA 14 - DESCOLAMENTO DA CAMADA EPITELIAL DO CÔRION DA VILOSIDADE () E INFILTRAÇÃO LINFOPLASMOCITÁRIA () NO INTESTINO DELGADO DE *R. norvegicus* INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM *D. racemosa*. TRICRÔMICO DE MALLORY. OB. 40X.



4.3.3 Aspecto Microscópico do Fígado

Ao exame microscópico, os cortes de fígado dos animais do tratamento 1 (T-1) que receberam a suspensão aquosa concentrada mostram hiperemia, escassos eritrócitos nos espaços de Disse e às vezes pequenas áreas com hemorragia na região centrolobular. Existem grupos de sinusóides dilatados nessa mesma região ou sem localização preferencial (fig. 15). Há acentuada megalocitose, com nucléolos evidentes e muitas vezes múltiplos, necrose de hepatócitos isolados (fig. 16), sem localização preferencial no lóbulo ou na região centrolobular. Às vezes a necrose é moderada nessa região com vacuolização citoplasmática de hepatócitos (fig. 17 e 18).

Um animal do tratamento 1 (T-1) apresentou necrose focal sem localização lobular preferencial. Existe edema em espaços Porta e em outros observam-se fibrose (fig. 19) as vezes com infiltração histiolinfoplasmocitária (fig. 20). Em alguns cortes observam-se raros focos histiolinfoplasmocitários isolados algumas vezes circundando vasos de pequeno calibre ou a veia centrolobular (fig. 21). Há também hiperplasia de ductos biliares (fig. 23).

Houve leve aumento e desarranjo das fibras reticulares no fígado (fig. 24 e fig. 24A) mas nenhuma nas fibras elásticas nos tratamentos teste (T-1, T-2, T-3 e T-4) em relação ao testemunha (T-5).

TABELA 4 - ASPECTOS MICROSCÓPICOS OBSERVADOS NO FÍGADO DE *R. norvegicus* NOS TRATAMENTOS T-1, T-2, T-3 E T-4.

FÍGADO	T-1	T-2	T-3	T-4
HIPEREMIA	++	++	++	+
HEMORRAGIA FOCAL	+	+	±	+
ERITRÓCITOS NOS ESPAÇOS DE DISSE	+	±	±	±
EDEMA PERIVASCULAR	+	-	-	-
EDEMA NOS ESPAÇO PORTA	++	+	±	±
TUMEFACÇÃO DE HEPATÓCITOS	++	++	+	±
MEGALOCITOSE	++++	+++	++	++
NECROSE DE HEPATÓCITOS ISOLADOS	++	++	+	+
INFILTRAÇÃO LP NOS ESPAÇO PORTA E FIBROSE	++	+	±	+
INFILTRAÇÃO LP FOCAL	+	+	-	+
VACÚOLOS CITOPLASMÁTICOS DE	+++	++	+	+
HEPATÓCITOS CENTROLOBULARES				
HIPERPLASIA DE DUCTOS BILIARES	+	±	±	±
GRUPOS DE SINUSÓIDES DILATADOS	+	±	±	±
NECROSE FOCAL SEM LOCALIZAÇÃO PREFERENCIAL	+	-	-	-

FIGURA 15 - HEMORRAGIA CENTROLOBULAR (→) E GRUPOS DE SINUSÓIDES DILATADOS (►) NO FÍGADO DE *R. norvergicus* INTOXICADO COM *D. racemosa*. HEMATOXILINA DE HARRIS-EOSINA. OB. 40X.

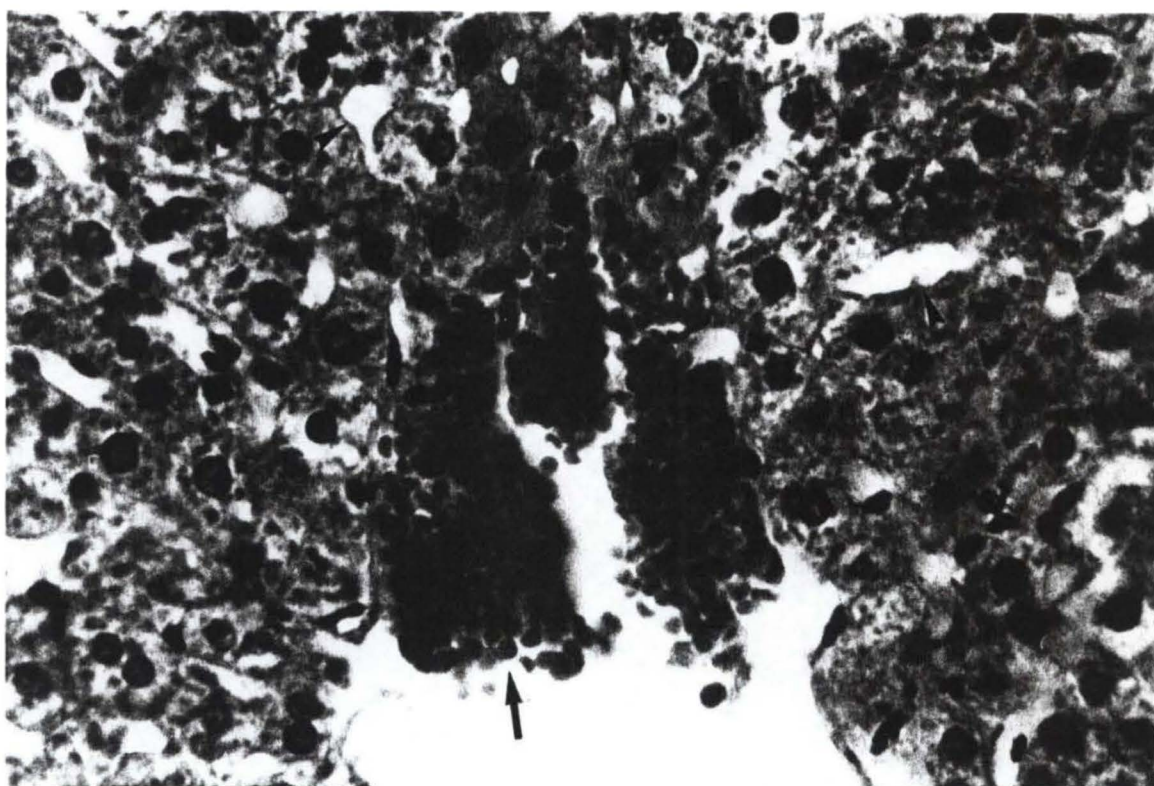


FIGURA 16 - ACENTUADA MEGALOCITOSE (→) COM NUCLEÓLOS MÚLTIPLOS E EVIDENTES E NECROSE DE HEPATÓCITOS ISOLADOS (►) NO FÍGADO DE *R. norvegicus* INTOXICADO COM *D. racemosa*. HEMATOXILINA DE HARRIS-EOSINA. OB. 40X.

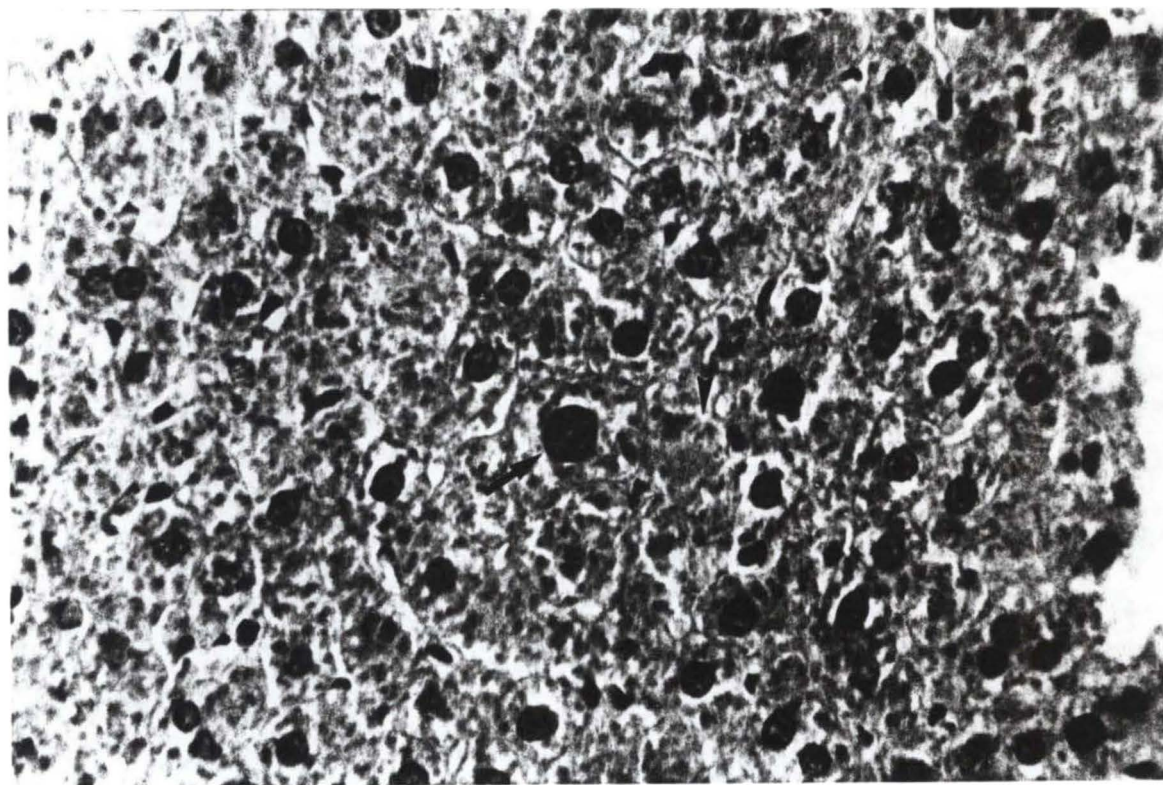


FIGURA 17 - NECROSE CENTROLOBULAR (→) E VACUOLIZAÇÃO CITOPLASMÁTICA DE HEPATÓCITOS (➤) NO FÍGADO DE *R. norvegicus* INTOXICADO COM *D. racemosa*. HEMATOXILINA DE HARRIS-EOSINA. OB. 40X.

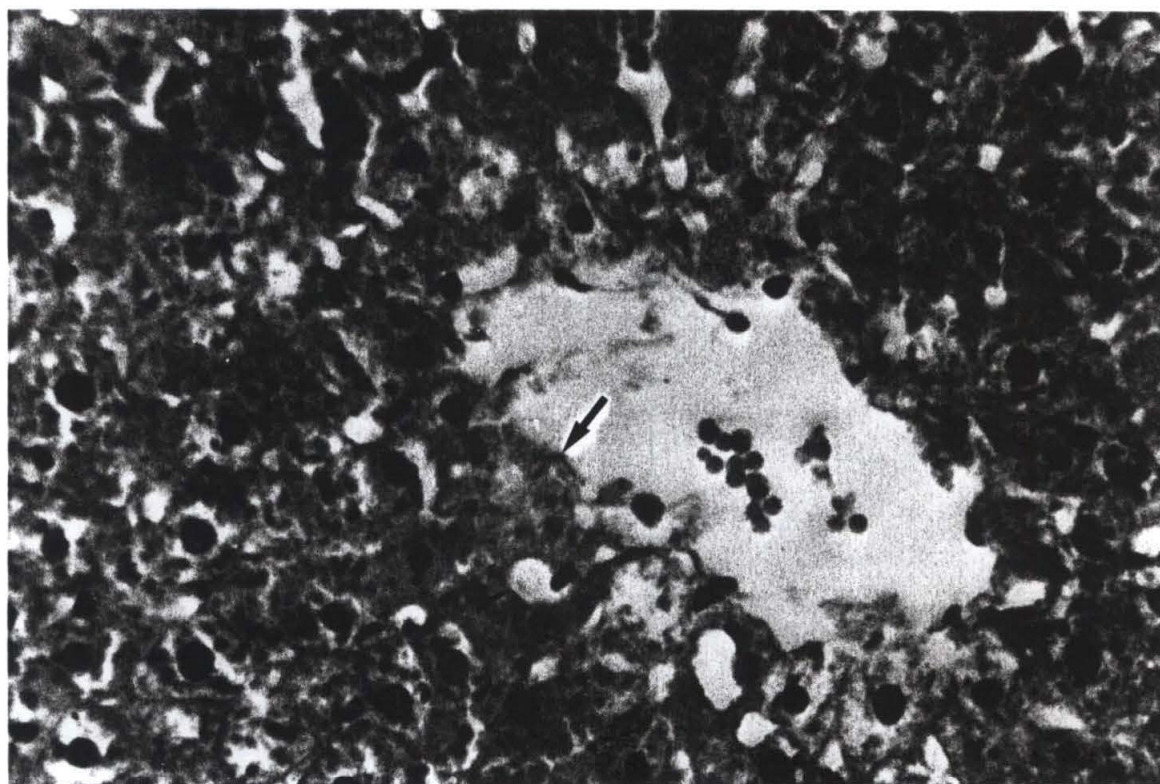




FIGURA 18 - NECROSE CENTROLOBULAR () E VACUOLIZAÇÃO CITOPLASMÁTICA DE HEPATÓCITOS () NO FÍGADO DE *R. norvegicus* INTOXICADO COM *D. racemosa*. TRICRÔMICO DE MALLORY. OB. 40 X.

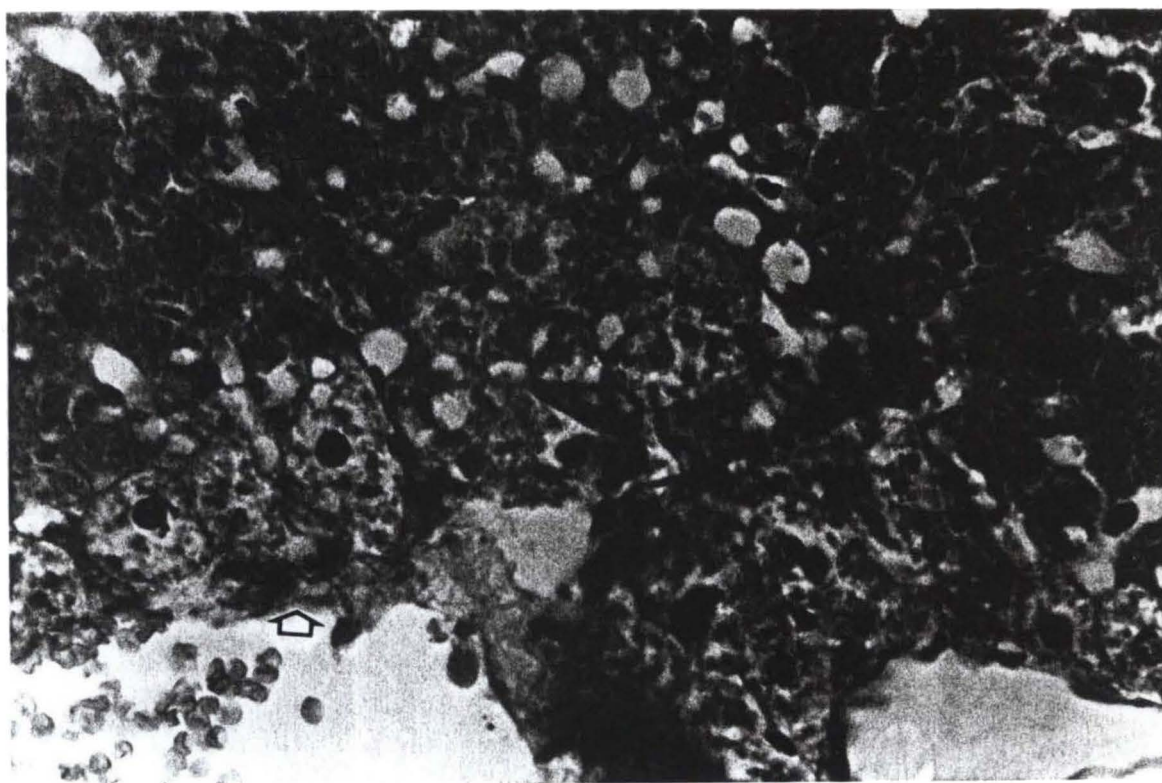



FIGURA 19 - FIBROSE NO ESPAÇO PORTA () NO FÍGADO DE *R. norvergicus* INTOXICADO COM *D. racemosa*. TRICRÔMICO DE MALLORY. OB. 40X.



FIGURA 20 - FIBROSE E INFILTRAÇÃO HISTIOLINFOPLASMOCITÁRIA NO ESPAÇO PORTA(➡)NO FÍGADO DE *R. norvegicus* INTOXICADO COM *D. racemosa*. HEMATOXILINA DE HARRIS-EOSINA. OB. 40X.

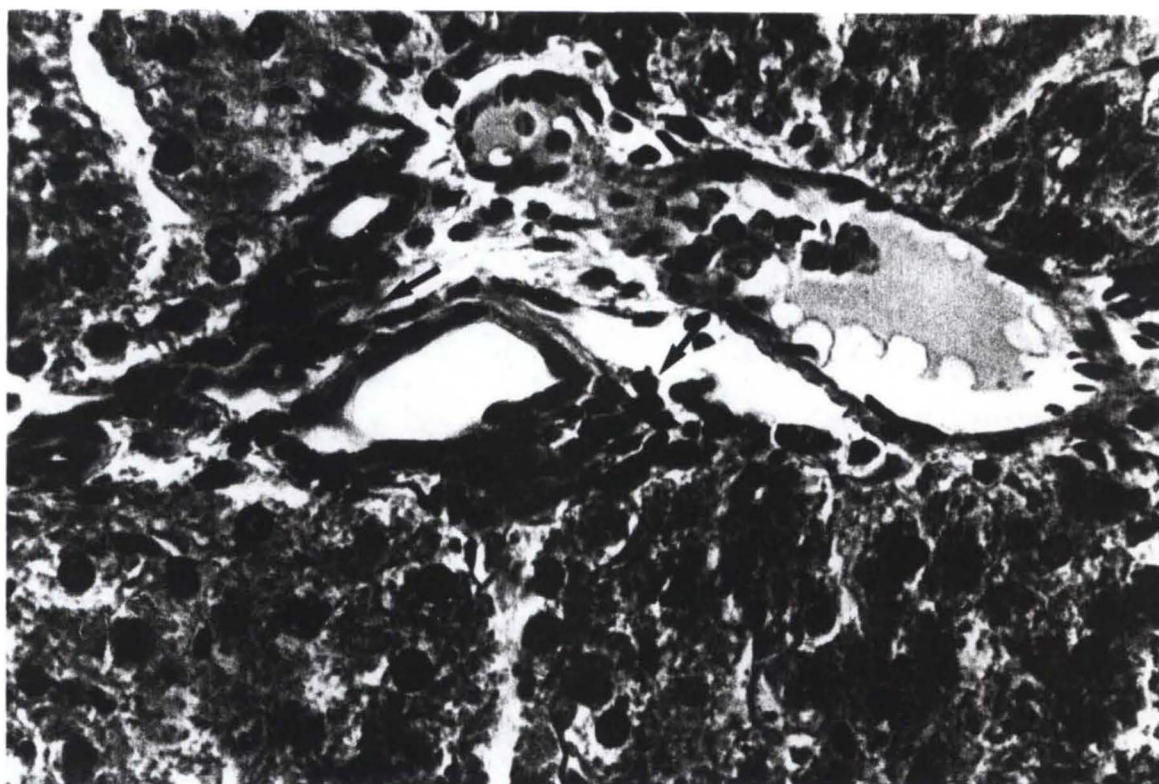


FIGURA 21 - FOCO HISTIOLINFOPLASMOCITÁRIO ISOLADO E CIRCUNDANDO VASO DE PEQUENO CALIBRE NO ESPAÇO PORTA (➤) NO FÍGADO DE *R. norvergicus* INTOXICADO COM *D. racemosa*. HEMATOXILINA DE HARRIS-EOSINA. OB. 40X.

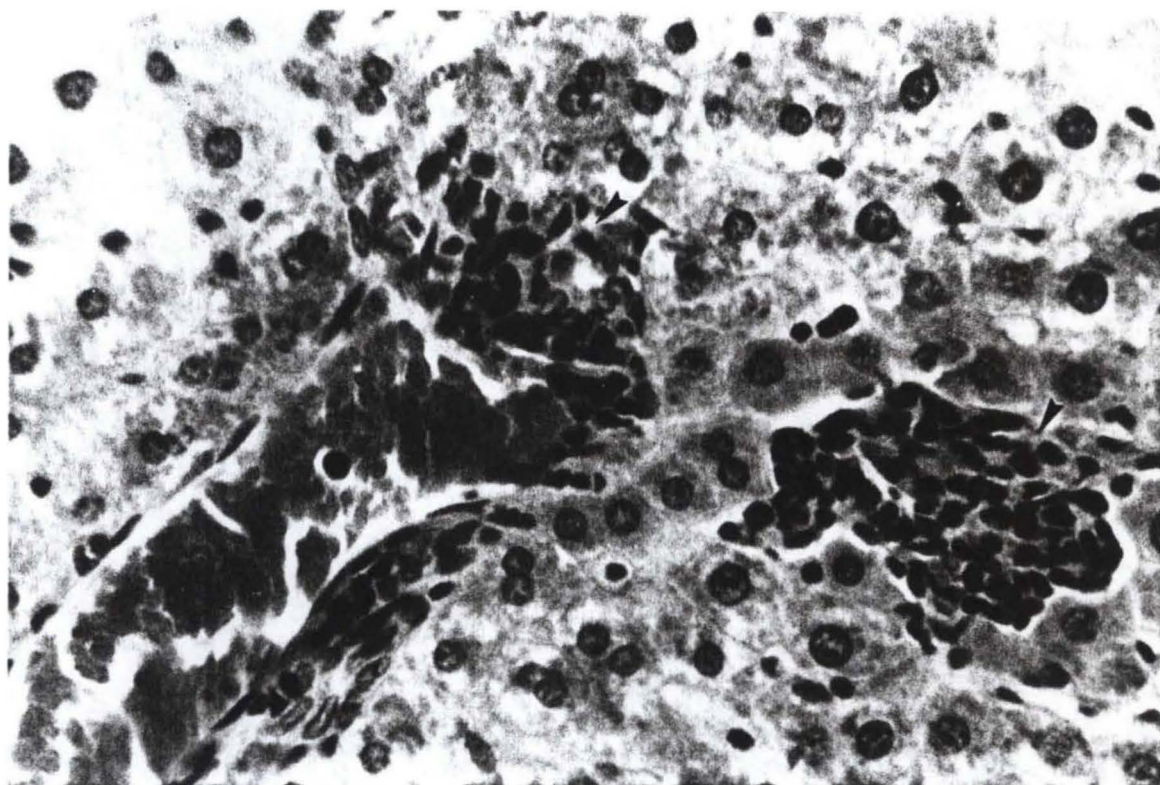


FIGURA 22 - INFILTRADO HISTIOLINFOPLASMOCITÁRIO AO REDOR DE VASO DO ESPAÇO PORTA (■) NO FÍGADO DE *R. norvegicus* INTOXICADO COM *D. racemosa*. TRICRÔMICO DE MALLORY. OB. 40X.

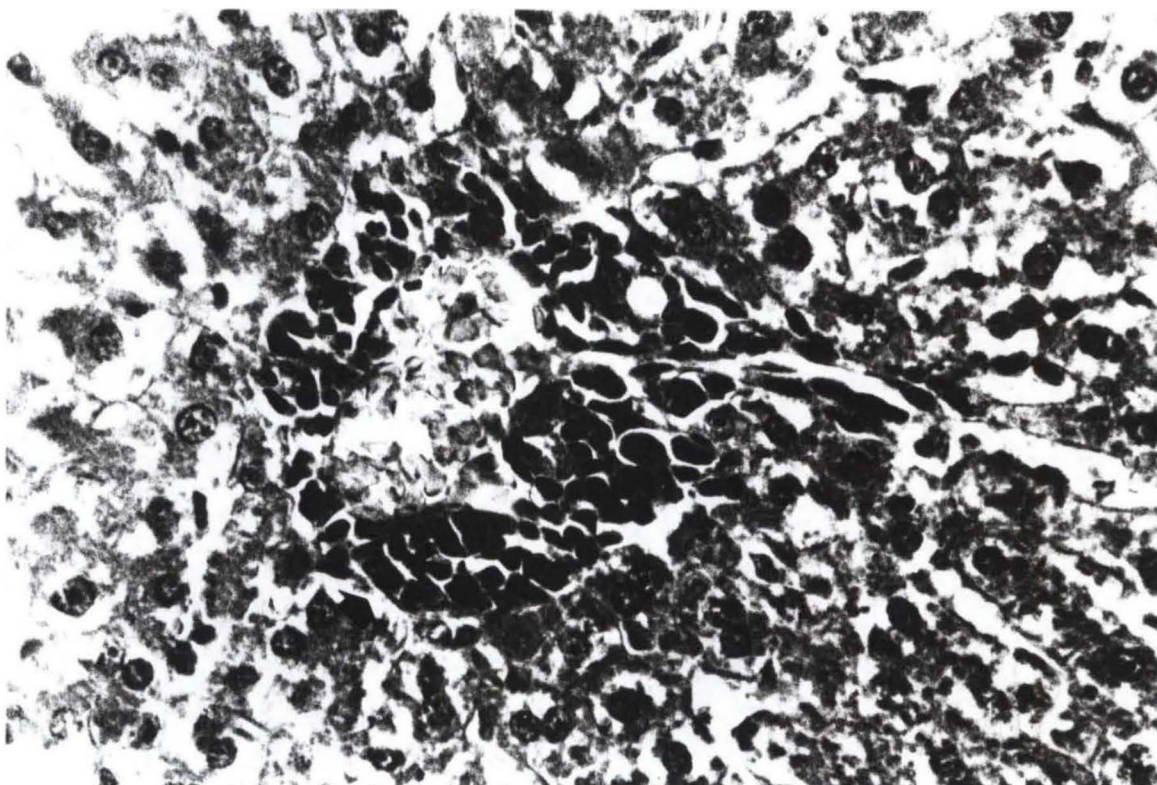


FIGURA 23 - HIPERPLASIA DE DUCTOS BILIARES (→) NO FÍGADO DE *R. norvegicus* INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM *D. racemosa*. TRICRÔMICO DE MALLORY. OB. 40X.

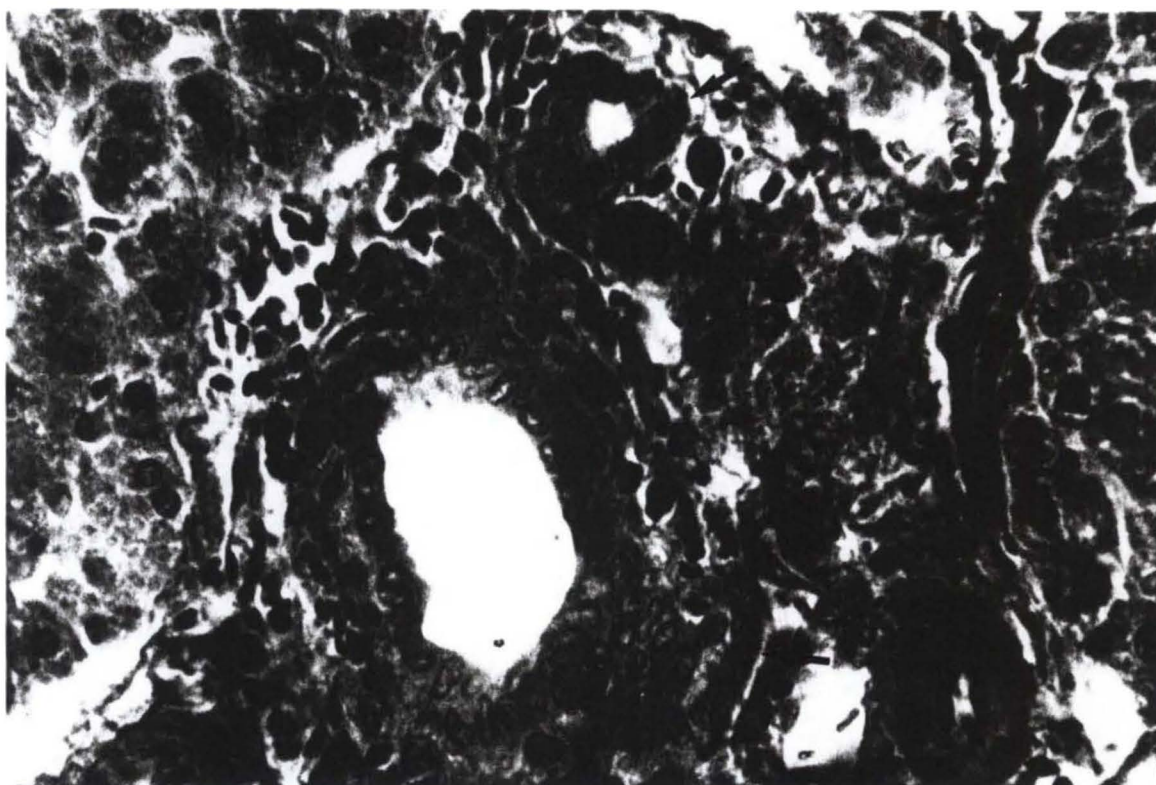


FIGURA 24 - AUMENTO E DESARRANJO DA REDE RETICULAR (➤) NO FÍGADO DE *R. norvegicus* INTOXICADO COM *D. racemosa*. TÉCNICA DE RIO HORTEGA PARA FIBRAS RETICULARES. OB. 10X.

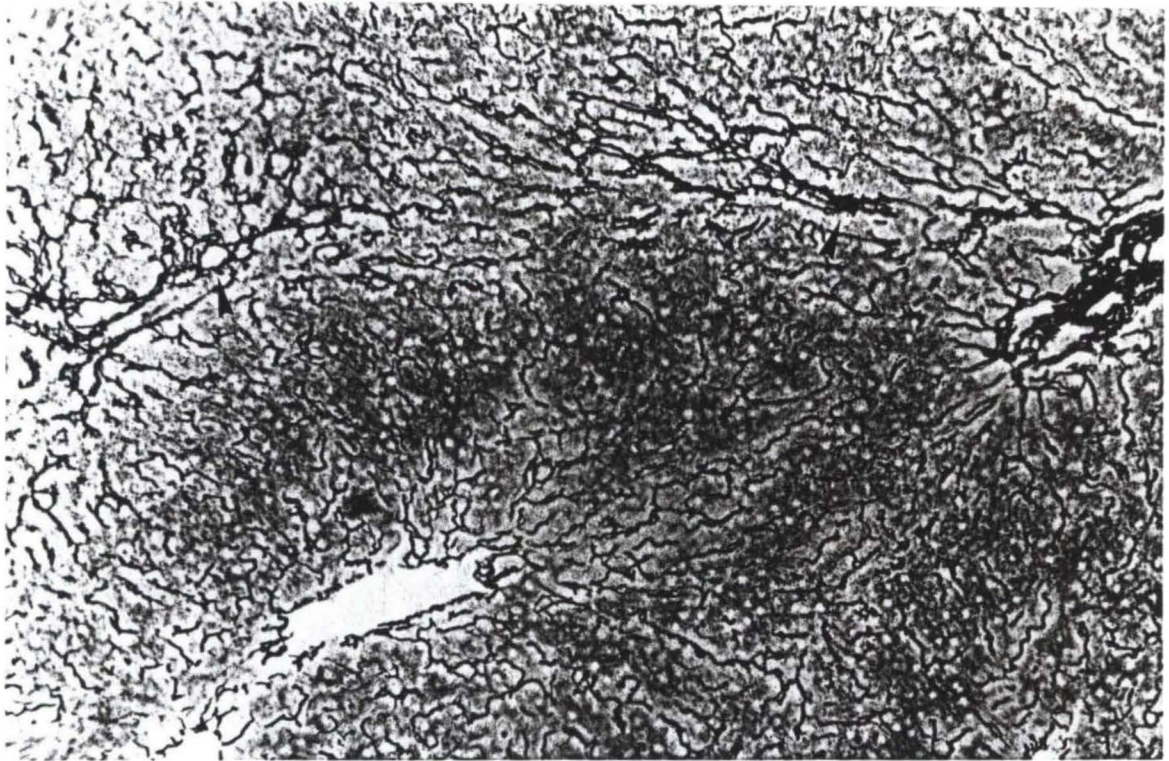
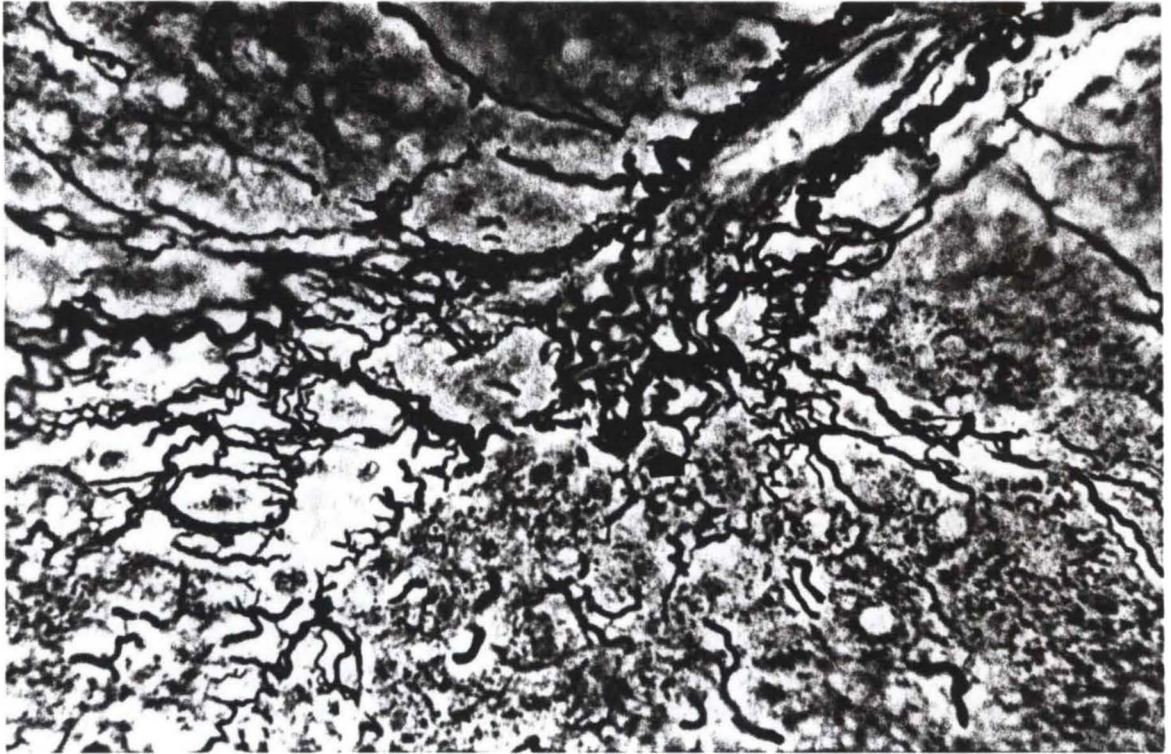


FIGURA 24A - AUMENTO E DESARRANJO DA REDE RETICULAR (■) NO FÍGADO DE *R. norvegicus* INTOXICADO COM *D. racemosa*. TÉCNICA DE RIO HORTEGA PARA FIBRAS RETICULARES. OB. 40X.



4.3.4 Aspecto Microscópico dos Rins

Os cortes histológicos de rins apresentam alguns túbulos contornados levemente dilatados e contendo proteína, na forma de massa hialina ou pequenos glóbulos, em pequena quantidade, esta também observada em espaços de Bowman (fig. 25).

Em algumas áreas existe necrose de túbulos, também há hipertrofia de algumas células epiteliais. Na luz de alguns túbulos observam-se poucos eritrócitos assim como em espaços de Bowman (fig. 26). Em um animal do tratamento 1 (T-1) há área com hemorragia.

TABELA 5 - ASPECTOS MICROSCÓPICOS OBSERVADOS NOS RINS NOS TRATAMENTOS T-1, T-2, T-3 E T-4.

RIM	T-1	T-2	T-3	T-4
HEMORRAGIA FOCAL	+	+	+	+
ERITRÓCITOS NOS ESPAÇO DE BOWMAN	+	±	±	±
ERITRÓCITOS NA LUZ DE TÚBULOS	+	-	-	-
PROTEÍNA NA LUZ DE TÚBULOS	+++	+++	++	+
PROTEÍNA NOS ESPAÇOS DE BOWMAN	++	++	+	+
NECROSE DE CÉLULAS EPITELIAIS	+	-	-	-
TUBULARES				

FIGURA 25 - TÚBULOS CONTORNADOS DILATADOS. PRESENÇA DE PROTEÍNA NA LUZ TUBULAR E NO ESPAÇO DE BOWMAN (➤) NO RIM DE *R. norvegicus* INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM *D. racemosa*. HEMATOXILINA DE HARRIS-EOSINA. OB. 40X.

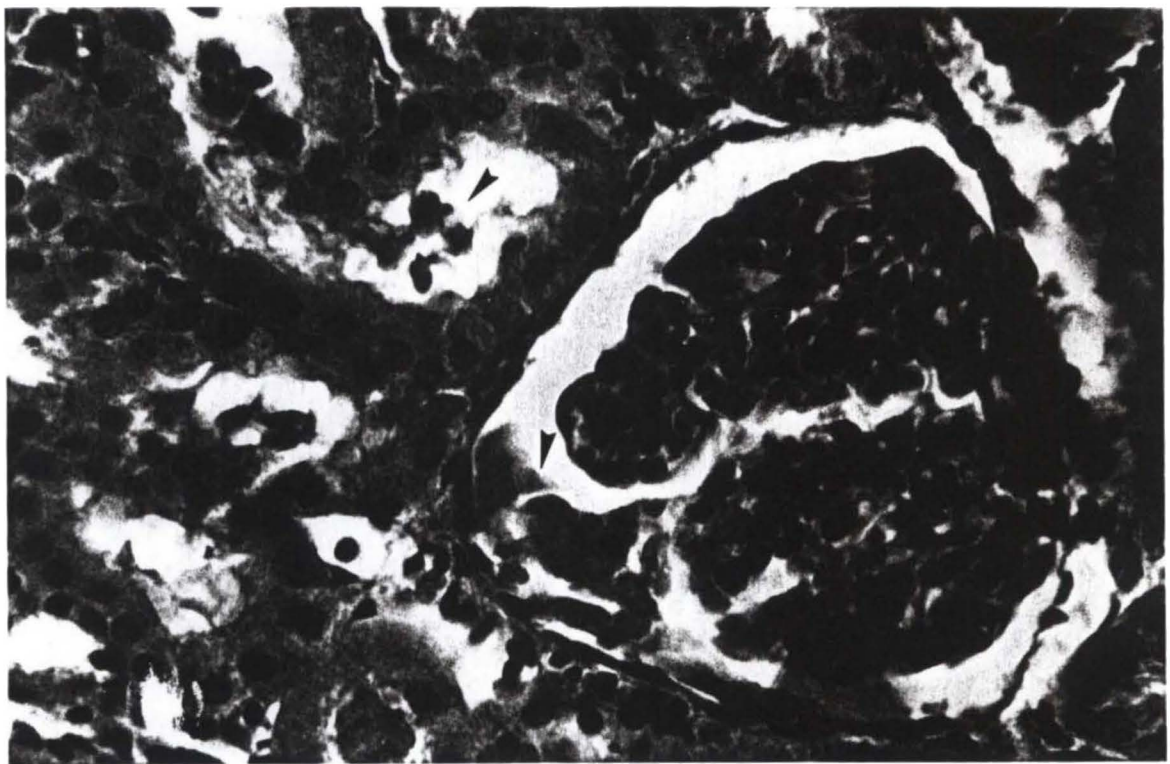
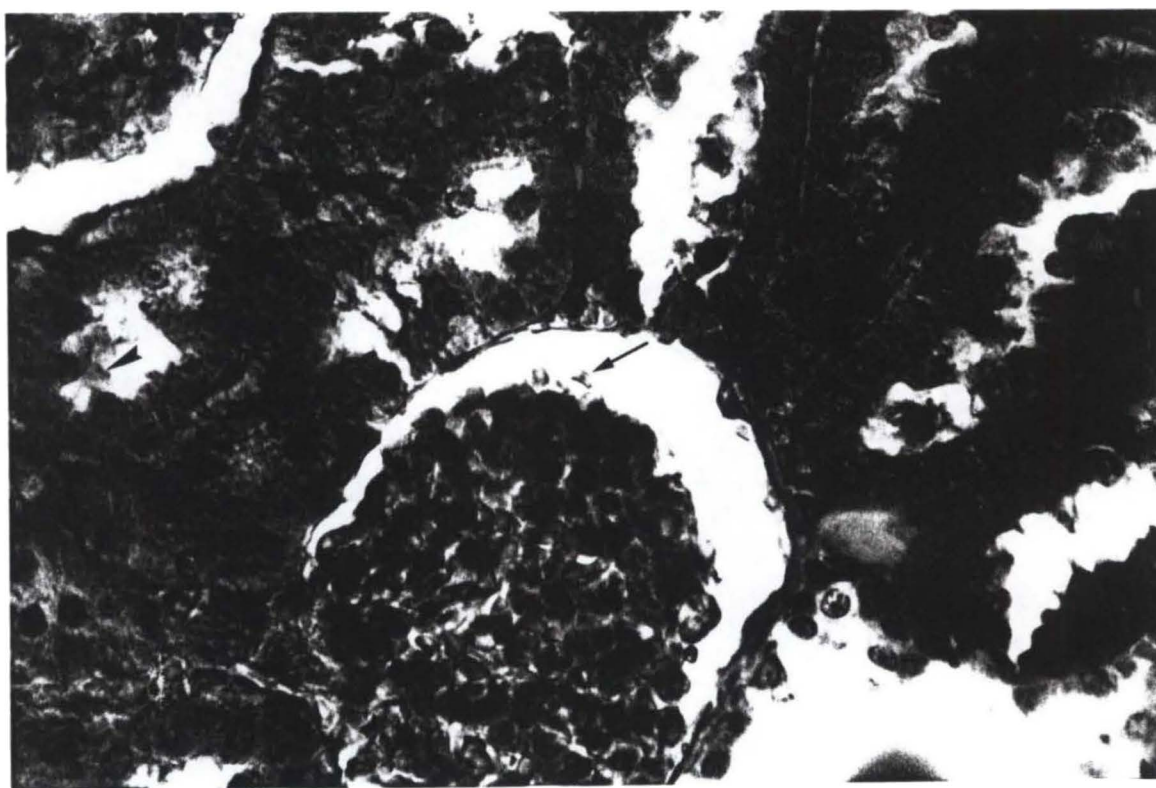


FIGURA 26 - ERITRÓCITOS NO ESPAÇO DE BOWMAN (—→) E NA LUZ TÚBULAR (►) NO RIM DE *R. norvegicus* INTOXICADO EXPERIMENTALMENTE COM *D. racemosa*. TRICRÔMICO DE MALLORY. OB. 40X.



4.4 ANÁLISE QUÍMICA DA PLANTA

As folhas e ramos de *Daphnopsis racemosa* Griseb. (embira-branca) foram analisados quimicamente, cujos resultados são apresentados através do relatório de ensaio nº 5211-22009/94 do Instituto de Tecnologia do Paraná - TECPAR-PR - Laboratório de Alimentos, destacando a quantidade de sódio e ferro presente na planta (tabela 6).

5 DISCUSSÃO

Daphnopsis racemosa ocorre em todo o Brasil conforme HOEHNE (1939) aparecendo com maior frequência em matas e margens de rios, fato observado na região de Castro-PR.

Não há citações de acidentes com humanos, no uso corrente da extração da casca para uso como cordas naquela região embora KUNKEL citado por HOEHNE (1939); NÖLLER [1] e STOUT[2] et al. citados por FROHNE et al. (1984) e HABERMEHL (1992) relatem óbitos humanos por ingestão de frutos ou pelo simples contato e pela manipulação da casca de *D. mezereum*, a representante mais estudada da família Thymelaeaceae.

A análise bromatológica de *D. racemosa* mostrou alto teor de sódio e ferro podendo ser este um fator predisponente à aceitabilidade por animais carentes desses elementos, principalmente em épocas de pastagens escassas possibilitando a ocorrência de intoxicação, embora não haja citações de tal fato por nenhum dos autores consultados.

[1] NÖLLER, H.G. Eine seidelbastintoxikation beim kinde. **Monatschr. Kinderheilk.** n.103, p.327-330, 1955

[2] STOUT, et al. The isolation and structure of daphnetoxin, the poisonous principle of *Daphne* species. **J. Am. Chem. Soc.** n.92, p.1070-1071, 1970

A época de maior ocorrência de casos de intoxicação e tipo de manejo dos animais está de acordo com as informações dos pecuaristas da região de Castro-PR com os autores consultados (HOEHNE, 1939; CARNEIRO, 1945 e ALVES [3], 1995) que afirmam que a intoxicação é verificada em épocas de escassez de alimento, nos meses de maio a setembro. Criadores regionais insistem em afirmar que os bovinos ingerem a planta quando murcha após roçada morrendo em seguida, entretanto MINARDI et al. (1980) afirmam que a planta verde e murcha demonstra ser de baixa aceitabilidade em experimento com bovinos corroborado por TOKARNIA et al. (1994). Em ratos (*R. norvegicus*) também não houve aceitabilidade.

Quanto a toxicidade, alguns autores como HOEHNE (1939) citam o uso da planta como catártico. TOKARNIA et al. (1994) relatam que é pouco provável que as embiras causem problemas para a criação. MINARDI et al. (1980) e TOKARNIA et al. (1994) verificaram a recuperação espontânea de bovinos intoxicados experimentalmente com *D. racemosa*.

[7] ALVES, G.C. Comunicação pessoal de observações necroscópicas em bufalinos, acompanhado de laudo de exame histopatológico n. H-01291/95/Panlab, 1995.

KUNKEL e SCHROFF citados por HOEHNE (1939); BETTIOL et al. (1970); STOUT [4] et al. e HOWARD [5] et al. citados por FROHNE et al. (1984) e HABERMEHL (1985) afirmam a alta toxicidade da família Thymelaeaceae, em especial a *D. mezereum*, afirmando que todas as partes das plantas são tóxicas.

ALVES [3] (1995) verificou mortes de bufalinos pela ingestão de *D. racemosa*. Os autores HOEHNE (1939); BETTIOL et al. (1970); NÖLLER [1] citado por FROHNE et al. (1984); SCHROFF citado por HOEHNE (1939) e MINARDI et al. (1980) são unânimes em afirmar a sintomatologia gastrointestinal, entretanto os animais experimentais não apresentaram sinais clínicos significativos. Todavia as lesões gastrointestinais, no fígado e rins demonstram o efeito tóxico nesses órgãos mesmo no tratamento 4 (T-4) que recebeu maior diluição da suspensão aquosa. Lesões semelhantes são citadas por HOEHNE (1939) e MacLACHLAN (1990).

A planta dessecada conservou seus princípios tóxicos, cujas lesões foram compatíveis nos ratos do experimento, estando de acordo com GARNER (1967) e BETTIOL et al. (1970) que afirmam que o princípio tóxico não é destruído pelo calor nem pela estocagem.

[4] STOUT, et al. The isolation and structure of daphnetoxin, the poisonous principle of *Daphne* species. **J. Am. Chem. Soc.** n. 92, p.1070-1071, 1970.

[5] HOWARD, et al. Living with poisonous plants. **Arnoldia** v.34, n.2, p. 41-96, 1974.

Nesta pesquisa foram analisados os efeitos tóxicos nos tecidos, não se determinou a dose letal conforme fizeram GARNER, (1967) e STOUT [2] *et al.* citados por FROHNE *et al.* (1984) que analisaram em eqüinos, caninos e camundongos respectivamente.

Não houve lesão pré-carcinogênica nos animais experimentais, não estando de acordo com HECKER [6] citado por FROHNE *et al.* (1984) que afirma atividade co-carcinogênica.

[6] HECKER, E. Chemische carcinogene pflanzlicher herkunft. **Dtsch. Apoth. Ztg.** n.111, p.2002, 1971

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nos 20 animais que receberam a suspensão aquosa de *D. racemosa* permite as seguintes conclusões:

A. Os exames histopatológicos confirmam a toxicidade da *D. racemosa* (embira-branca) para ratos (*R. norvegicus*), mesmo na maior diluição como foi observado no tratamento 4 (T-4).

B. A dessecação, moagem e armazenamento da planta durante o experimento não anulou os efeitos tóxicos, comprovado pelas lesões apresentadas.

C. Não foram observados sinais clínicos significativos, entretanto houve lesões macro e microscópicas compatíveis.

D. Demonstrou-se má palatabilidade para ratos (*R. norvegicus*) deduzindo-se efeito semelhante para outras espécies.

7 ANEXOS

TABELA 6 - ANÁLISE QUÍMICA DAS PARTES AÉREAS DESSECADAS E MOÍDAS DE *D. racemosa* EFETUADA NO LABORATÓRIO DE ALIMENTOS DO TECPAR-PR.

COMPONENTE	VALOR
Umidade, g/100g	8,19 ($\pm 0,41$)
Proteína (N x 6,25), g/100g	8,8 ($\pm 1,2$)
Extrato etéreo, g/100g	1,83 ($\pm 0,08$)
Resíduo mineral fixo, g/100g	8,52 ($\pm 0,90$)
Fibras, g/100g	22,42 ($\pm 0,95$)
Cálcio (Ca), g/100g	1,57 ($s \pm 0,05$)
Fósforo (P), g/100g	0,17 ($s \pm 0,01$)
Magnésio (Mg), g/100g	0,26 ($s \pm 0,01$)
Potássio (K), g/100g	0,43 ($s \pm 0,06$)
Sódio (Na), mg/kg	269 ($s \pm 95$)
Ferro (Fe), mg/kg	188,50 ($s \pm 0,71$)

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01 AOAC. **Official methods of analisis**, 26031-26083 [S.L.], 1984.
- 02 BETTIOL, A. *et al.* **Cartilha do agricultor**. Secretaria da Agricultura do RS. Porto Alegre: Tabajara, v.4, p.51-53, 1970.
- 03 CARNEIRO, P. de T.A. Plantas venenosas e sua ocorrência em Minas Gerais. **Rev. Ceres**, Viçosa, v.6, n.34, p.221-256, jul./ago., 1945.
- 04 FROHNE, D. *et al.* **A colour atlas of poisonous plants**, 2nd ed., London: Normam Grainger Bisset, 1984. p. 226-9
- 05 GARNER, R.J. **Veterinary toxicology**. 3rd ed., London : Baillière, Tindal & Cassel, 1967. p. 401
- 06 HABERMEHL, G.G. Poison plants of europe. In: JAMES, *et al.* (Eds.) **Poison Plants: Proceedings of the third International Symposium**. Ames: Iowa State University Press, 1992. p.80-1
- 07 HARKNESS, J.E. *et al.* **Biologia e clínica de coelhos e roedores**, 3. ed. São Paulo : Roca, 1993.
- 08 HOEHNE, F.C. **Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais**. São Paulo : Graficars, 1939. p.204-206
- 09 JUBB, K.V.F. *et al.* **Patologia de los animales domésticos**. 3.ed. Montevideo : Hemisferio Sur, 1991. v.2, p.277-353
- 10 JONES, T.C. *et al.* Enfernidades debidas a venenos exógenos. In: _____. **Patologia veterinária**. Buenos Aires : Hemisferio Sur, 1986. v.6, p. 1036
- 11 KRAJIAN, A.A. *et al.* **Histological technic**. 2nd ed. St. Louis : Mosby Company, 1952.

- 12 MacLACHLAN, N.J. Fígado, sistema biliar e pâncreas exócrino. In: _____. **Patologia veterinária especial**. São Paulo : Manole, 1990, p.289-291

- 13 MICHALANY, J. **Técnica histológica em anatomia patológica**: com instrução para cirurgião, enfermeiro e citotécnico. São Paulo: Ed. Pedagógica e Universitária EPU, 1980.

- 14 MINARDI, I. et al. Intoxicação experimental em bovinos pelas folhas de imbira (*Daphnopsis racemosa* GRISEB). **Rev. S.C.Agr.**, Curitiba, v.2, p.149- 152, jul./dez. 1980.

- 15 THOMSON, R.G. **Patologia veterinária especial**. São Paulo : Manole, 1990.

- 16 TOKARNIA, C.H. et al. **Plantas tóxicas da Amazônia**: a bovinos e outros herbívoros. Manaus: INPA, 1979. p.1-3

- 17 TOKARNIA, C.H. et al. Aspectos clínico-patológicos complementares da intoxicação por algumas plantas tóxicas brasileiras. **Brazilian Journal of Veterinary Research**, Rio de Janeiro, v.14, n.4, p.111-122, out./dez. 1994.